

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA DE EQUINOS COM OCLUSÃO
JUGULAR POR TROMBOSE INDUZIDA SUBMETIDOS A EXERCÍCIO
FÍSICO E TESTE DA TERAPIA COM ESTREPTOQUINASE

Deborah Penteado Martins Dias

Orientador: Prof. Dr. José Corrêa de Lacerda Neto

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Cirurgia Veterinária.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Junho de 2011

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

DEBORAH PENTEADO MARTINS DIAS, natural de São Carlos – SP, obteve o título de Médica Veterinária pela Universidade Estadual de Londrina em dezembro de 2001. Kursou Especialização *Lato Sensu* em Clínica e Cirurgia Veterinária – Área de Grandes Animais na Universidade Federal de Viçosa durante o ano de 2002. Em 2003 e 2004 kursou Programa de Aprimoramento Profissional em Medicina Veterinária (Residência) – Área de Clínica Cirúrgica e Anestesiologia de Grandes Animais, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp – Câmpus de Jaboticabal, mesma instituição na qual obteve os títulos de Mestre em Cirurgia Veterinária em julho de 2007 e agora de Doutor em Cirurgia Veterinária. A experiência na área de clínica, cirurgia e anestesiologia de grandes animais gerou inúmeras publicações científicas na área, aperfeiçoada por estágios e cursos no Brasil e exterior, com ênfase em cirurgia, anestesiologia e medicina esportiva de equinos. Possui ainda experiência didática, tendo ministrado inúmeras aulas e palestras em cursos de aperfeiçoamento e extensão universitária.

“When life hands you lemons, make lemonade.”

Julius Rosenwald

“Dedico este trabalho ao meu eterno namorado Thiago”

Agradeço...

...inicialmente aos meus amados pais, Manoel e Angélica, pelo eterno apoio e infinita inspiração em absolutamente todos os momentos da minha vida.

...ainda aos meus pais, pela tão sólida transmissão genética do caráter do pesquisador!!

...ao meu querido irmão Daniel "Pedrume", pela ajuda incondicional e sem limites com os artigos impossíveis, tabelas, gráficos, traduções, etc, etc, etc...

...à minha amada avó Cida, pelo apoio sempre presente e pelo melhor tallarine do mundo que, por muitas vezes supriu os carboidratos necessários para o bom funcionamento do meu cérebro.

...AMORE MIO... meu eterno namorado Thiago, pelo AMOR e dedicação, AMOR e companheirismo, AMOR e compreensão em todos os momentos...

...ao meu querido "Pai Científico" Prof. Juca, que acreditou nas minhas idéias e orientou os seus sentidos.

...aos Professores Antônio de Queiroz Neto, Antônio Carlos Alessi, Áureo Evangelista Santana, Carlos Augusto Araújo Valadão, Delphim da Graça Macoris, Guilherme de Camargo Ferraz, José Antônio Marques, José Carlos Barbosa, José Jurandir Fagliari, José Wanderley Cattelan e Júlio Carlos Canola, da FCAV – Unesp, inicialmente pela amizade e, pelos equipamentos e esclarecimentos indispensáveis para a realização deste trabalho.

...Professeur Olivier Lepage, du Pôle Equin, VetAgro Sup, Lyon, France, pour toutes les opportunités depuis quelques années de ma vie scientifique...

...à Profa. Dra. Juliana Regina Peiró, da FMVA – Unesp.

...ao Prof. Dr. Carlos Eli Piccinato, da FMRP – USP.

...aos Cirurgiões Vasculares Dr. Wagner de Paula Ferreira e Dr. Marcos da Silveira, cujos consultórios foram a fonte das primeiras idéias...

...à minha equipe de amigos Raquel, Paulo Aléscio, Luisa, Nara, Lina, Kamila, Deco, Marruco, Rita, Pastel e Pirigoso que, com muita dedicação, paciência e bom humor, contribuíram de forma imensurável para o sucesso deste trabalho...

...aos técnicos Renata, Claudia e Paulo, do Laboratório de Pós-graduação do DCCV.

...aos meus pets Duda, Dory, Naomi, Kiko (in memorian), Horácio, Unknow, Amora e Schumacher pelo amor incondicional e companhia insubstituível!!!!

...aos cavalos Frebite, Olímpico, Barbie, Zé Bob, Rebeca, Punky, Elizabeth, Paulinho, Anusha, Maya, Pé de Pano, Panqueca, Ravi, Puja, Cavalocóptero, Catarina, Docinho, Renatinha, Conchito, Robinho, Felício, Bala no Alvo, Bolognesa e The Last, sem os quais este trabalho não existiria...

...à FAPESP pelo auxílio pesquisa e bolsa concedidos.

Sem vocês não seria possível...

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
RESUMO.....	xi
SUMMARY.....	xii
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1.1. Objetivos Específicos.....	10
CAPÍTULO 2 – PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE IMPLANTAÇÃO E MANUTENÇÃO PROLONGADA DE CATETER NA ARTÉRIA FACIAL DE EQUINOS.....	11
Resumo.....	11
2.1. Introdução.....	12
2.2. Material e Métodos.....	14
2.3. Resultados e Discussão.....	20
CAPÍTULO 3 – PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE INDUÇÃO EXPERIMENTAL DE TROMBOFLEBITE JUGULAR EM EQUINOS.....	24
Resumo.....	24
3.1. Introdução.....	25
3.2. Material e Métodos.....	28
3.3. Resultados e Discussão.....	32
3.3.1. Avaliação Clínica.....	32
3.3.2. Avaliação Ultrassonográfica.....	34
CAPÍTULO 4 – TERAPIA TROMBOLÍTICA REGIONAL COM ESTREPTOQUINASE NO TRATAMENTO DA TROMBOFLEBITE JUGULAR EM EQUINOS.....	43
Resumo.....	43
4.1. Introdução.....	44
4.2. Material e Métodos.....	47
4.3. Resultados e Discussão.....	50
4.3.1. Avaliação Clínica.....	50
4.3.2. Avaliação Ultrassonográfica.....	50

CAPÍTULO 5 – AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA DE EQUINOS SUBMETIDOS A OCLUSÃO JUGULAR POR TROMBOSE DURANTE O EXERCÍCIO PROGRESSIVO EM ESTEIRA ROLANTE.....	55
Resumo.....	55
5.1. Introdução.....	56
5.2. Material e Métodos.....	59
5.3. Resultados e Discussão.....	65
5.3.1. Instrumentação e testes ergométricos.....	65
5.3.2. Frequência cardíaca.....	67
5.3.3. Pressão arterial.....	68
5.3.4. Pressão da artéria pulmonar.....	71
5.3.5. Pressão venosa regional.....	73
6. CONCLUSÕES.....	76
7. REFERÊNCIAS.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS

°C.....		graus Celsius
AP-t.....		ativador de plasminogênio tecidual
AP-u.....		ativador de plasminogênio tipo uroquinase
bpm.....		batimentos por minuto
cm.....		centímetros
DMSO.....		dimetilsulfóxido
EQ.....		estreptoquinase
EPM.....		erro padrão da média
ET.....		exercício teste
FC.....		frequência cardíaca
FC _{max}		frequência cardíaca máxima
Fr.....		french
G.....		grupo
GA.....		gauge
I-1AP.....		Inibidor-1 de ativador de plasminogênio
IM.....		intramuscular
kg.....		quilograma
m.....		metro
mg.....		miligrama
mg/kg.....		miligrama por quilograma
m/s.....		metro por segundo
min.....		minuto
mL.....		mililitro
mmHg.....		milímetros de mercúrio
OE.....		oleato de etanolamina
PAD.....		pressão arterial diastólica
PAM.....		pressão arterial média
PAP.....		pressão da artéria pulmonar
PAS.....		pressão arterial sistólica

PVC.....	pressão venosa central
PVR.....	pressão venosa regional
Q.....	débito cardíaco
RPT.....	resistência periférica total
s.....	segundo
SI.....	segmento de indução
UI.....	unidades internacionais
UI/kg.....	unidades internacionais por quilograma
UI/mL.....	unidades internacionais por mililitro

RESUMO

AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA DE EQUINOS COM OCLUSÃO JUGULAR POR TROMBOSE INDUZIDA SUBMETIDOS A EXERCÍCIO FÍSICO E TESTE DA TERAPIA COM ESTREPTOQUINASE

A tromboflebite jugular é frequentemente encontrada em equinos causando comprometimento circulatório grave nas regiões cervical e cefálica. Até o presente momento, não há relatos que avaliem as alterações hemodinâmicas em equinos causadas pela obstrução venosa jugular por trombo durante o exercício. Da mesma forma, não há relatos da eficácia da terapia trombolítica regional com estreptoquinase no tratamento desta alteração vascular em equinos. Os objetivos deste trabalho foram: avaliação da técnica cirúrgica de canulação da artéria facial e manutenção prolongada do cateter com solução de heparina e ácido ascórbico, visando realizar de forma seriada colheita de amostras sanguíneas e avaliação invasiva de pressão arterial, durante o exercício em esteira rolante; estabelecimento de um modelo de indução de tromboflebite da veia jugular de equinos utilizando solução de dois agentes esclerosantes associados: oleato de etanolamina 5% e glicose 50%; avaliação da terapia trombolítica regional com estreptoquinase como tratamento da tromboflebite jugular induzida experimentalmente em equinos; avaliação hemodinâmica de equinos submetidos a oclusão unilateral da veia jugular por tromboflebite induzida. Vinte equinos adultos foram utilizados para conclusão dos protocolos. O procedimento de cateterização da artéria facial e manutenção do cateter com solução de heparina e ácido ascórbico, manteve a via arterial viável por 25 dias. O protocolo de indução não cirúrgica de tromboflebite jugular experimental foi eficaz em reproduzir a lesão de forma padronizada. Foram observadas alterações hemodinâmicas significativas nos equinos apresentando oclusão jugular por trombose induzida, durante o exercício de esforço progressivo em esteira rolante. A terapia trombolítica com estreptoquinase demonstrou que a fármaco apresenta ação fibrinolítica nos trombos dos equinos, porém não foi capaz de recanalizar permanentemente os vasos acometidos.

Palavras-chave: artéria facial; equino; estreptoquinase; exercício; hemodinâmica; tromboflebite jugular

SUMMARY

HEMODYNAMIC CHANGES IN HORSES PRESENTING JUGULAR OCCLUSION THROUGH INDUCED THROMBOSIS SUBMITTED TO EXERCISE AND STREPTOKINASE THERAPY TEST

Thrombophlebitis of the jugular vein is commonly observed in horses leading to head and neck circulatory impairment. To date, there are no reports evaluating hemodynamic changes in horses presenting thrombus obstruction during the exercise. In addition, there are no studies about the use of streptokinase in thrombolytic therapy for treatment of jugular vein thrombophlebitis in horses. The purposes of this study were: to evaluate the technique for facial artery catheter implantation and long-term maintenance using heparin and ascorbic acid as a filling solution, to perform serial blood sampling and invasive arterial pressure measurement during the exercise on treadmill; establishment of an equine jugular vein thrombophlebitis induction model using a solution of two sclerosing agents in association: ethanolamine oleate 5% and glucose 50%; hemodynamic evaluation in horses presenting unilateral occlusion of the jugular vein through experimental induced thrombophlebitis; evaluation of regional thrombolytic therapy using streptokinase as a treatment for jugular vein induced thrombophlebitis in horses. Twenty adult horses were assessed to conclude all the protocols. Procedures for facial artery catheterization and maintenance using heparin and ascorbic acid as a filling solution kept the arterial line open for 25 days. The nonsurgical protocol to induce experimental jugular thrombophlebitis was efficient in reproduce a standardized lesion. Significant hemodynamic changes were observed in the horses presenting jugular occlusion through induced thrombosis during the exercise on treadmill. Streptokinase thrombolytic therapy test showed that the drug exerts fibrinolytic action on horses' thrombus, however it was not capable to permanently recanalize injured vessels.

Keywords: exercise; facial artery; horse; hemodynamics; streptokinase; jugular thrombophlebitis

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

A tromboflebite jugular é uma complicação iatrogênica frequentemente observada em equinos, particularmente nos animais submetidos à terapia intensiva. A terapia trombolítica com o uso de diferentes fármacos é amplamente empregada na medicina para o tratamento de trombose aguda. Até o presente momento, não há relatos do uso de agentes trombolíticos no tratamento de trombose em equinos. O objetivo desta revisão é ressaltar os conceitos do sistema fibrinolítico e da tromboflebite jugular em equinos e, ainda, destacar algumas evidências de que a estreptoquinase pode ser usada como tratamento de tal enfermidade.

Em 1958, ASTRUP propôs o conceito do equilíbrio dinâmico entre os sistemas de coagulação e fibrinolítico. Em delicada harmonia, o sistema fibrinolítico degrada a fibrina que é continuamente depositada no sistema cardiovascular como resultado da restrita ativação fisiológica do sistema de coagulação. Sabe-se que, os sistemas de coagulação e fibrinolítico interagem por meio de mecanismos de *feedback* que não são completamente compreendidos (KASHYAP & QUIÑONES-BALDRICH, 2000).

A fibrinólise é regulada de modo que trombos indesejáveis de fibrina sejam removidos da circulação normal, enquanto a fibrina persiste em feridas para prevenir a perda de sangue mantendo a hemostasia (MAJERUS et al., 1990; BANERJEE et al., 2004).

A principal enzima do sistema fibrinolítico é uma glicoproteína produzida no fígado, o plasminogênio (KASHYAP & QUIÑONES-BALDRICH, 2000). O plasminogênio livre é encontrado na forma inativa e pode ser convertido na forma ativa, a plasmina, por duas diferentes proteases séricas, sendo estas o ativador de plasminogênio tecidual (AP-t), liberado pelas células endoteliais em resposta a estase ou lesão na parede vascular e o ativador de plasminogênio urinário ou tipo uroquinase (AP-u). A via mediada pelo AP-t é primariamente envolvida na homeostase da fibrina e, a via mediada pelo AP-u está relacionada à migração celular e ao remodelamento tecidual (COLLEN, 1999).

A ativação do plasminogênio ocorre pela clivagem de uma ligação arginina-valina, que produz mudanças conformacionais formando a enzima ativa plasmina, levando a aumento na sua afinidade tanto pelos substratos de degradação como pelos ativadores (KASHYAP & QUIÑONES-BALDRICH, 2000).

A plasmina é uma protease inespecífica, sendo capaz de hidrolisar, além da fibrina, várias proteínas plasmáticas, incluindo o fibrinogênio e os fatores de coagulação (MAJERUS, et al., 1990; KASHYAP & QUIÑONES-BALDRICH, 2000; KUNAMNENI et al., 2007). A plasmina ainda ativa metaloproteinases que, em resposta, degrada a matriz extracelular (COLLEN, 1999).

A atividade fibrinolítica é modulada por inibidores tanto dos ativadores de plasminogênio, como inibidores da ação proteolítica da plasmina. O inibidor que age nos ativadores de plasminogênio é chamado inibidor-1 de ativador de plasminogênio (I-1AP). O I-1AP é um inibidor de ação rápida sobre AP-t e AP-u. Os inibidores que agem na plasmina são alfa₂-antiplasmina e alfa₂-macroglobulina (BANERJEE et al., 2004; KUNAMNENI et al., 2007).

A alfa₂-antiplasmina forma um complexo covalente com a enzima, sendo o seu principal inibidor fisiológico (KASHYAP & QUIÑONES-BALDRICH, 2000). As concentrações plasmáticas de alfa₂-antiplasmina são suficientes para inibir aproximadamente 50% da plasmina potencial (MAJERUS et al., 1990), sendo de doze horas a meia vida do complexo alfa₂-antiplasmina e plasmina (KASHYAP & QUIÑONES-BALDRICH, 2000). Quando ocorre ativação maciça de plasminogênio, o inibidor é depletado e a presença de plasmina livre leva ao estado lítico sistêmico. Neste estado, o risco de hemorragia é maior, porém é nesta condição que a terapia trombolítica se torna efetiva (MAJERUS et al., 1990).

Infelizmente, o equilíbrio proposto por ASTRUP (1958), é facilmente quebrado em estados patológicos, quando o sistema fibrinolítico do organismo falha em manter a fluidez sanguínea em vasos lesionados, resultando em trombose (KASHYAP & QUIÑONES-BALDRICH, 2000).

O desequilíbrio que leva à formação do trombo pode ser resultado de múltiplos fatores, incluindo a injúria vascular ou lesões intrínsecas à parede do vaso, o fluxo

sanguíneo diminuído ou a estase venosa e a hipercoagulabilidade do sangue (KASHYAP & QUIÑONES-BALDRICH, 2000). Esta clássica tríade, que descreve a patogênese da formação do trombo, foi primeiramente delineada por VIRCHOW em 1856.

Atualmente, com base em evidências experimentais e clínicas, reconhece-se que ao menos dois dos três fatores propostos agindo em combinação são necessários na progressão da trombose venosa. Em humanos, a alteração no fluxo sanguíneo, acarretando ou não a estase venosa, parece ser o componente dominante (MAMMEN, 1992). Entretanto, em equinos o fator mais importante da tríade no desenvolvimento de trombose jugular é o trauma local (LANKVELD et al., 2001).

A trombose patológica se inicia com a aderência de plaquetas a macromoléculas da região subendotelial do vaso sanguíneo lesionado, formando o tampão hemostático primário. As plaquetas estimulam a ativação local de fatores de coagulação presentes no plasma, levando à formação de coágulo de fibrina que reforça o agregado plaquetário. Em vasos sanguíneos intactos, a trombose é prevenida por mecanismos anticoagulantes do organismo. Prostaciclina (PGI₂), antitrombina, proteoglicanos de heparan sulfato, proteína C e o inibidor de coagulação associados às lipoproteínas são exemplos de inibidores orgânicos de trombose (MAJERUS, et al., 1990).

A tromboflebite é definida como trombose venosa secundária à inflamação da parede vascular (WHITE II, 1990; ETTLINGER et al., 1992; KLOHNEN, 2009).

A tromboflebite em equinos acomete mais comumente a veia jugular, pois o vaso é o principal local utilizado no acesso à circulação venosa. A enfermidade é consequência de venopunção inadequada, cateterização prolongada ou imprópria, ou injeção de fármacos irritantes, manobras estas que levam às injúrias mecânica ou química da parede venosa (CANNON et al., 1983; ETTLINGER et al., 1992; KNOTTENBELT & PASCOE, 1994; RIJKENHUIZEN & VAN SWIETEN, 1998; DIVERS, 2003; MOREAU & LAVOIE, 2009).

O fluxo sanguíneo é prejudicado pelo estreitamento do lúmen vascular pelo trombo, que obstrui total ou parcialmente a passagem do sangue (THOMASSIAN, 1996; EDENS, 1999;).

A presença de infecção pode complicar a lesão. Na tromboflebite séptica, observa-se a colonização bacteriana ou, raramente fúngica, na parede do vaso, no trombo e algumas vezes nos tecidos perivasculares (EDENS, 1999).

MAIR & SMITH (2005) relataram que 8,3% de 252 cavalos submetidos a tratamento cirúrgico de cólica apresentaram tromboflebite da veia jugular.

Em relação a cateterizações, o desenvolvimento de tromboflebite é dependente não apenas da composição do cateter, mas também relacionado ao diâmetro da cânula, à técnica de venopunção, à manutenção do cateter, ao pH da solução administrada, à duração da infusão e à presença de bactérias (DICKSON et al., 1990). A origem infecciosa destaca a importância de técnicas assépticas na implantação e manutenção de cateteres venosos.

Os fármacos mais frequentemente associados ao desenvolvimento de tromboflebite jugular em equinos incluem éter gliceril guaiacol, tiopental, gluconato de cálcio, fenilbutazona e oxitetraciclina (THOMASSIAN, 1996; EDENS, 1999). A fenilbutazona, amplamente utilizada no tratamento anti-inflamatório de enfermidades do sistema locomotor de equinos atletas, quando erroneamente infundida na região perivascular é comumente associada ao desenvolvimento de tromboflebite nestes indivíduos (THOMASSIAN, 1996; BEARD, 2000).

Estudo bacteriológico avaliando técnicas de desinfecção no local de inserção de cateteres jugulares em equinos, mostrou que soluções de clorexidine e iodo são igualmente eficazes quando utilizadas sobre a pele após a eliminação dos pelos. Concluiu-se ainda que a realização de tricotomia antes da desinfecção é recomendada, porém não há diferença bacteriológica se os pelos forem deixados longos, tosados ou raspados. Assim, a pele pode ser desinfetada efetivamente com soluções de clorexidine ou iodo sem a retirada dos pelos, quando a cateterização intravenosa deve ser realizada de forma rápida devido às emergências clínicas (GERAGHTY et al., 2009a).

Uma etiologia atípica de tromboflebite jugular equina foi descrita por MATSUDA et al. (2010), no qual a lesão venosa apresentava-se como extensão direta a partir de uma fístula oral.

O equino acometido por tromboflebite jugular asséptica geralmente não apresenta sinais sistêmicos, mostrando enrijecimento venoso local e cordoniforme. Na presença de bactérias associadas à lesão resultando em tromboflebite séptica, os animais apresentam picos de febre, depressão e dificuldade em movimentar o pescoço. A palpação local mostra edema, aumento de temperatura, dor e enrijecimento vascular. Distensão venosa espontânea proximal ao trombo é observada em caso de oclusão completa do fluxo sanguíneo. Geralmente, o equino apresenta leucocitose, neutrofilia e hiperfibrinogenemia (DYSON, 1997). Trombos sépticos podem ainda causar pleuropneumonia hematogênica por metástase na circulação pulmonar (RYU et al., 2004).

O edema vasogênico é a forma mais comum de edema cerebral, afetando mais a substância branca do que a cinzenta (KANDEL et al., 2000). Ele se forma em razão do aumento da pressão nos capilares cerebrais e, uma vez iniciado, comprime os vasos diminuindo o fluxo sanguíneo, causando isquemia cerebral. Por sua vez, a isquemia causa dilatação arteriolar, o que eleva ainda mais a pressão capilar, aumentando o edema. Como o cérebro está alojado em uma cavidade rígida, o acúmulo de fluído excedente comprimindo os vasos sanguíneos pode causar destruição do tecido nervoso (GUYTON & HALL, 2002).

Diferente de outras espécies, o equino não apresenta a veia jugular profunda ou interna (BARBOSA et al., 2009), sendo portanto as veias jugulares a principal via de retorno venoso da cabeça. Assim, a oclusão de ambas as veias jugulares representa alta morbidade devido às consequências da hipertensão venosa cefálica, causando aumento na pressão cérebro-espinhal (COMEROTA et al., 1986).

Tromboflebite jugular bilateral em equinos aumenta a pressão hidrostática levando a edema de retina que resulta em hemorragia e cegueira, edema de cabeça, incluindo língua, faringe, laringe e região parotídea, com potencial risco de desenvolvimento de disfagia e dispnéia (COMEROTA et al., 1986; KNOTTENBELT & PASCOE, 1994; RIJKENHUIZEN & SWIETEN, 1998; EDENS, 1999; MORRIS, 2000; DIVERS, 2003; KLOHNEN, 2009; MOREAU & LAVOIE, 2009). Outras consequências

de pressão cérebro-espinhal aumentada incluem dores de cabeça, letargia, convulsões, depressão respiratória, coma e morte (COMEROTA et al., 1986).

O diagnóstico da tromboflebite jugular, séptica ou asséptica, é determinado principalmente mediante levantamento da história clínica e pelo exame físico (THOMASSIAN, 1996; DYSON, 1997; EDENS, 1999). Exames diagnósticos complementares incluem testes hematológicos, ultrassonografia, angiografia contrastada e pesquisa bacteriológica nas lesões sépticas (WHITE II, 1990; DYSON, 1997; REIMER, 1998; JOFFE & GOLDHABER, 2002).

A avaliação ultrassonográfica da veia e dos tecidos circunvizinhos é o melhor meio para caracterização e monitoramento da extensão e progressão da lesão (GARDNER et al., 1991; KLOHNEN, 2009). A veia jugular e suas válvulas podem ser facilmente identificadas (WHITE II, 1990). No caso de tromboflebite, a ultrassonografia permite a avaliação da parede vascular, o comprometimento do fluxo sanguíneo, presença, extensão e formato do trombo, bem como as características de recanalização e vascularização compensatórias (BARBOSA et al., 2009).

A aparência sonográfica normal da veia é a de uma estrutura tubular ou circular anecóica com identificação da parede hiperecólica do vaso (EDENS, 1999). Na tromboflebite a parede vascular aparece espessada e o trombo é identificado como estrutura hiperecólica, parcial ou totalmente oclusiva, aderida à parede do vaso. No caso de obstruções parciais, o fluxo sanguíneo apresenta-se anecóico, sendo observado entre o trombo e a parede vascular oposta àquela na qual o trombo encontra-se aderido (REEF, 1998; EDENS, 1999; DIAS, 2010). Se a oclusão do fluxo pelo trombo for parcial, é recomendada a distensão da veia por pressão digital distal ao trombo para se evitar colapso do vaso durante a avaliação ultrassonográfica (BARBOSA et al., 2009).

Trombos sépticos são visualizados como uma massa hiperecólica heterogênea com cavitações, na qual áreas anecóicas representam acúmulo de fluido secundário à infecção e necrose (GARDNER et al., 1991; EDENS, 1999). Em infecções anaeróbias observa-se áreas hiperecóicas, que criam sombra acústica, relacionadas às bolhas de gás produzidas pelas bactérias (EDENS, 1999).

Se um cateter encontrar-se implantado na veia quando a trombose for diagnosticada, este deve ser cuidadosamente removido e sua extremidade cortada para realização de cultura microbiológica. A determinação do agente infeccioso e sua sensibilidade aos antibióticos, é importante no estabelecimento do tratamento (WHITE II, 1990). Foi provado que enquanto um cateter venoso permanecer implantado, o trombo não regredirá e, ainda, pode aumentar (GERAGHTY et al., 2009b).

Além disso, o vaso acometido deve ser preservado, evitando-se utilizá-lo para venopunções. A veia jugular oposta também deve ser preservada na tentativa de se evitar que a trombose se torne bilateral, acessando-se as veias torácica lateral, cefálica ou safena para administração de fármacos e obtenção de amostras de sangue (GARDNER & DONAWICK, 1992).

A tromboflebite jugular pode ser tratada local ou sistemicamente. A terapia local inclui compressas mornas e hidroterapia na área afetada três ou quatro vezes ao dia e, ainda, massagem com solução de dimetilsulfóxido (DMSO). O ictamol tópico também pode ser utilizado na redução da inflamação. Anti-inflamatórios não esteroidais são úteis na redução da inflamação e no controle da dor. Antibióticos sistêmicos são indicados no caso de lesão séptica (WHITE II, 1990; DARGATZ & DARGATZ, 1993; DIVERS, 2003). Se a lesão trombótica for parte de coagulopatia generalizada, terapia com heparina é recomendada na dose de 100 unidades internacionais por quilograma (UI/kg), por via intravenosa três vezes ao dia (WHITE II, 1990).

SCOTT et al. (1980) relataram dois casos de tromboflebite jugular em equinos, tratados com sucesso, por terapia anticoagulante com warfarina. Entretanto, os autores indicam a terapia apenas quando o estado de coagulação puder ser monitorado diariamente mediante determinações laboratoriais do tempo de protrombina.

Quando o tratamento médico for ineficaz, técnicas cirúrgicas incluindo flebotomia, trombectomia com cateter de *Fogarty* ou implantes venosos devem ser consideradas no sentido de restabelecer o fluxo sanguíneo (CANNON et al., 1983; BEN-CHEHIDA et al., 1994; RIJKENHUIZEN & VAN SWIETEN, 1998; WIEMER et al., 2005; DORNBUSCH et al., 2007; HUSSNI et al., 2009; RUSSELL et al., 2010).

DIAS et al. (2010) realizaram avaliações ultrassonográficas durante a fase aguda de tromboflebite jugular experimental em equinos, observando que o maior desenvolvimento do trombo ocorre no estágio inicial da lesão, sugerindo que as primeiras 24 horas são consideradas o principal período de intervenção para execução do tratamento.

Pleuropneumonia, endocardite bacteriana, tromboembolismo pulmonar, septicemia e outras condições associadas às metástases do trombo séptico, são as complicações que podem ocorrer secundariamente à tromboflebite jugular em equinos (MOREAU & LAVOIE, 2009).

A recuperação da trombose é variável, podendo ocorrer completa recanalização da veia, organização fibrótica do trombo sem recanalização ou desenvolvimento de circulação colateral (MOREAU & LAVOIE, 2009). HUSSNI et al. (2006), demonstraram por meio de exames angiográficos que a circulação colateral em equinos submetidos à ressecção unilateral da veia jugular se desenvolve no prazo de um ano, restabelecendo a drenagem venosa da cabeça e pescoço.

No caso de persistência de obstrução venosa antes que a circulação colateral se desenvolva adequadamente, particularmente quando há envolvimento de ambas as veias jugulares, a disfagia e dificuldade respiratória devidas às alterações no retorno venoso da cabeça podem limitar o desempenho do cavalo no esporte e trabalho (RIJKENHUIZEN & SWIETEN, 1998; EDENS, 1999).

MOREAU & LAVOIE (2009) sugerem que a tromboflebite jugular não afeta o desempenho atlético de equinos utilizados para passeio e outras atividades, exceto corrida, mesmo em animais apresentando oclusão bilateral. Entretanto, em cavalos de corrida, a enfermidade é associada a decréscimo nas chances de retorno ao esporte.

DIAS et al. (2009) realizaram avaliação hemodinâmica de equinos submetidos a oclusão cirúrgica por ligadura da veia jugular durante exercício progressivo em esteira rolante. A pressão venosa da jugular ocluída, medida proximal à ligadura, aumentou com a intensidade do esforço, atingindo valores duas vezes maiores no grupo com oclusão bilateral, sugerindo que a congestão venosa é agravada pelo exercício.

Até o momento, os tratamentos médicos propostos para a tromboflebite jugular em equinos nem sempre têm sido eficazes, sendo comprovado que o restabelecimento do fluxo sanguíneo só ocorre mediante procedimentos cirúrgicos complexos e custosos.

Com o uso de fármacos capazes de estimular o sistema fibrinolítico, é possível tratar trombos intravasculares obtendo-se completa dissolução destes (KASHYAP & QUIÑONES–BALDRICH, 2000). A estreptoquinase é um agente trombolítico que promove fibrinólise pois forma complexo estável com o plasminogênio endógeno, ganhando atividade enzimática (RANG & DALE, 1987).

A terapia trombolítica local ou regional com estreptoquinase, tem sido utilizada com sucesso em humanos no tratamento de trombose de veias superficiais, como a subclávia axilar (KASHYAP & QUIÑONES–BALDRICH, 2000). Portanto, a estreptoquinase teria seu uso justificável em casos de tromboflebite jugular em equinos, devido à semelhança entre o processo de formação da trombose em equinos e humanos e, ainda, pelo fato da jugular tratar-se de veia de localização superficial e de fácil acesso.

A proposta deste trabalho se baseia no fato de que a avaliação quantitativa, baseada em dados hemodinâmicos, em relação ao comprometimento no desempenho atlético de equinos que apresentam obstrução jugular por trombose, ainda não foi sugerida. Outrossim, a terapia trombolítica regional com estreptoquinase no tratamento de tal enfermidade nunca foi testada.

Hipotetizando que a tromboflebite jugular comprometa a realização de atividade física e, que a terapia proposta para a enfermidade se apresente segura e efetiva, este estudo servirá de base para a orientação da realização de exercícios em equinos apresentando tromboflebite jugular e, para a difusão do tratamento por trombólise utilizando-se estreptoquinase, contribuindo de forma imensurável com a saúde equina.

1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a técnica cirúrgica de canulação da artéria facial e manutenção da patência prolongada do cateter com o uso de solução de heparina e ácido ascórbico, visando realizar de forma seriada a colheita de amostras sanguíneas e a mensuração invasiva da pressão arterial, no repouso e durante o exercício em esteira rolante.
- Estabelecer um modelo experimental de indução de tromboflebite jugular em equinos com o uso de dois agentes esclerosantes associados, as soluções de glicose a 50% e de oleato de etanolamina a 5%.
- Avaliar a eficácia da terapia trombolítica regional com estreptoquinase no tratamento da tromboflebite jugular induzida experimentalmente em equinos.
- Avaliar a hemodinâmica de equinos submetidos à oclusão unilateral da veia jugular por tromboflebite experimental induzida, no repouso e durante o exercício em esteira rolante.

CAPÍTULO 2 – PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE IMPLANTAÇÃO E MANUTENÇÃO PROLONGADA DE CATETER NA ARTÉRIA FACIAL DE EQUINOS

RESUMO

O objetivo deste ensaio foi avaliar a viabilidade da implantação cirúrgica de cateter de poliuretano na artéria facial de equinos e, sua manutenção prolongada com solução de heparina e ácido ascórbico como preenchimento, visando realizar colheitas sanguíneas e avaliações de pressão arterial seriadas em repouso e durante o exercício em esteira rolante. Nove cavalos foram cirurgicamente implantados com cateter de poliuretano longo (20 cm) na artéria facial. A via arterial foi mantida por meio de irrigações periódicas com solução de heparina e ácido ascórbico. Amostras de sangue arterial foram coletadas duas vezes ao dia durante 25 dias e um exercício teste de esforço progressivo, incluindo colheita de amostras sanguíneas seriadas e avaliação de pressão arterial média, foi realizado em esteira rolante no dia seguinte a implantação do cateter. Os procedimentos cirúrgicos se desenvolveram sem complicações, sendo o tempo cirúrgico variável entre 15 e 40 minutos. Os cateteres foram irrigados e preenchidos com solução de heparina e ácido ascórbico a cada 8 horas e se mantiveram viáveis por 25 dias, quando foram retirados. Não observaram-se reações adversas à solução utilizada. Todos os animais realizaram o exercício teste sem complicações, ao longo do qual colheitas de sangue e medidas de pressão arterial foram tomadas. O cateter de poliuretano cirurgicamente implantado na artéria facial de equinos pode ser mantido por períodos prolongados quando preenchido com solução de heparina e ácido ascórbico, viabilizando o acesso arterial invasivo prolongado que pode ser utilizado com sucesso para colheitas de sangue e medidas de pressão arterial seriadas, mesmo durante o exercício em esteira rolante.

Palavras-chave: artéria facial; cateter; equino; exercício; pressão arterial

2.1. INTRODUÇÃO

O acesso invasivo arterial, fornece importantes informações durante protocolos experimentais realizados com equinos, destacando-se as avaliações fisiológicas, ergométricas e farmacológicas. A via arterial pode ser utilizada para colheita sanguínea e medidas hemodinâmicas como de frequência cardíaca, pressão arterial e débito cardíaco (Q). Entretanto, a obtenção sequencial de sangue arterial e de variáveis hemodinâmicas só pode ser realizada de maneira fidedigna, mediante a cateterização de uma artéria, manobra esta dificultada por complicações envolvendo o correto posicionamento dos cateteres e a manutenção do estado de higidez do vaso sanguíneo e do lúmen do cateter durante longos períodos experimentais.

Atualmente as artérias, facial e, carótida reposicionada cirurgicamente são as vias arteriais mais acessadas.

Técnicas cirúrgicas de preparação de arcos exteriorizando a artéria carótida em grandes animais, foram estudadas objetivando colheitas sequenciais de sangue arterial (GRAHAM et al., 1937; McCLYMONT, 1950; JHA et al., 1961; BONE et al., 1962; LINZELL, 1963) e medidas de pressão (JHA et al., 1961; BONE et al., 1962). Entretanto, tal técnica foi descrita como inviável em equinos devido à quantidade inadequada de pele livre no pescoço necessária para a preparação dos arcos (TAVERNOR, 1969).

Atualmente, o reposicionamento da artéria carótida comum junto ao tecido subcutâneo é comumente realizado visando o acesso arterial (BUTLER, 1962; TAVERNOR, 1969; DUECK et al., 1982; ORSINI & ROBY, 1997). Tal técnica apresenta-se viável em equinos permitindo registros de pressão arterial em repouso (TAVERNOR, 1969). Carótidas reposicionadas podem ser cateterizadas evitando-se complicações como hematomas subcutâneos causados por repetidas punções com agulha (TAVERNOR, 1969; DUECK et al., 1982; ORSINI & ROBY, 1997).

PRASSINOS et al. (2001), estudaram comparativamente diferentes técnicas visando o acesso à artéria carótida em pequenos ruminantes. Os autores compararam duas técnicas de preparação de arcos da artéria carótida (GRAHAM et al., 1937; BONE

et al., 1962) com outra de reposicionamento subcutâneo (DUECK et al., 1982), concluindo que a melhor escolha para colheitas sequenciais de sangue arterial é via carótidas reposicionadas junto ao tecido subcutâneo.

Alguns autores descreveram a avaliação indireta de pressão arterial na artéria coccígea medial de equinos em repouso (PARRY et al., 1984; MAGDESIAN, 2004; PICCIONE et al., 2009). PICCIONE et al. (2009) estudaram algumas variáveis em equinos durante o exercício, incluindo pressão arterial, porém todas as medidas foram realizadas em repouso entre fases de exercício. Considerando outros métodos, RICCO et al. (2009) descreveram o uso de um sistema sem fio para obtenção da pressão arterial invasiva por telemetria em equinos.

De acordo com CORLEY (2003), a maneira mais precisa de se obter valores de pressão arterial é com o uso de cateter implantado na artéria, o que requer irrigação com solução fisiológica ou fisiológica heparinizada, de maneira intermitente ou contínua com o uso de bomba de infusão para ser mantido.

Assim, muitos autores descrevem que a via arterial tem sido obtida através do posicionamento transcutâneo de cateter na artéria facial transversa durante protocolos farmacológicos e testes ergométricos em equinos.

Qualquer complicação, mecânica ou trombótica que interrompa o fluxo sanguíneo pelo cateter, leva à falha na via arterial. O processo de trombose tem sido evitado através do preenchimento dos cateteres com soluções anti-coagulantes, como heparina, em diferentes concentrações (STEPHENS, 1997). Em humanos, soluções de ácido ascórbico são amplamente utilizadas para preencher intermitentemente cateteres venosos centrais na rotina hospitalar.

A manutenção da patência de cateteres arteriais implantados via transcutânea em equinos é limitada devido às dificuldades em evitar obstrução por trombos e o correto posicionamento do cateter dentro da artéria, principalmente durante o exercício em esteira rolante. Em relação aos métodos indiretos e telemétricos de avaliação da pressão arterial, estes nunca foram testados em avaliações ergométricas e, ainda, não permitem a colheita de amostras sanguíneas.

O objetivo deste ensaio foi avaliar a viabilidade da implantação cirúrgica de cateter de poliuretano na artéria facial de equinos e, sua manutenção prolongada com solução de heparina e ácido ascórbico como preenchimento, visando realizar colheitas sanguíneas e avaliações de pressão arterial seriadas em repouso e durante o exercício em esteira rolante. Em aditamento, objetivamos descrever a curva de pressão arterial média (PAM) de equinos adultos durante um teste de esforço progressivo em esteira rolante. Hipotetizamos que a implantação cirúrgica do cateter arterial poderia ser realizada sem maiores complicações e, que a via arterial obtida poderia ser usada durante várias semanas.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo experimental realizado no presente estudo está de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / Unesp – Câmpus de Jaboticabal (Protocolo nº 004302-06).

Foram utilizados nove equinos adultos, cinco machos e quatro fêmeas, sem raça definida (SRD), com idade média de 9 ± 2 anos e peso médio de 297 ± 8 kg. Considerados hígidos por meio de avaliação clínica, todos os animais passaram por programas de desverminação¹, vacinação² e controle de ectoparasitas³ antes de iniciar o período experimental.

Os animais foram mantidos em baias individuais e receberam como alimentação 1% do peso corpóreo em alimento volumoso, constituído de feno de Tifton (*Cynodon dactylon*), 1% do peso corpóreo em ração concentrada, sal mineral e água *ad libitum*.

¹ EQUALAN Pasta – Merial Saúde Animal Ltda., Paulínia – SP

² Fluvac Innovator EHV 4/1 – Fort Dodge Animal Health, Iowa – USA

³ Butox[®] P CE 25 – Intervet Brasil, Akzo Nobel Ltda. – São Paulo – SP

Uma semana antes das canulações arteriais, os animais foram adaptados ao exercício em esteira rolante⁴. durante três dias consecutivos. No primeiro dia, os animais foram conduzidos até a manta de rolagem do equipamento para se acostumar ao ambiente, ao piso de borracha, às barras de contenção e à cinta de segurança. Após completa acomodação com a esteira parada, o equipamento foi ligado à velocidade de 1,5 metro por segundo (m/s) durante 5 minutos (min), para o animal acostumar-se ao movimento de passo e, desligado para acostumar-se à parada. Este procedimento foi repetido 3 vezes.

No segundo dia, os animais foram conduzidos até a esteira e realizaram 5 min de passo (1,5 m/s). A velocidade foi aumentada gradativamente até atingir 3,5 m/s, quando já trotavam, permanecendo assim por 3 min, seguidos de mais 3 min a 4,5 m/s e 3 min. a 5,5 m/s. Adequados ao trote alongado, a velocidade foi aumentada gradativamente até 7,5 m/s quando os animais já galoparam. A esteira foi inclinada em 5% (elevação de 5 cm da extremidade frontal para cada metro (m) de comprimento da esteira), aumentando o esforço para favorecer o aprendizado do galope e, assim mantida até o animal realizar o movimento com ritmo e equilíbrio. De volta à posição horizontal, foi realizado desaquecimento compreendendo 3 min de trote (3,5 m/s) seguidos de 5 min de passo (1,5 m/s).

No terceiro dia, a esteira foi ligada com velocidade inicial de 1,5 m/s durante 5 min, seguidos de 3 min de trote (3,5 m/s) para aquecimento. A velocidade foi aumentada até o galope a 7,5 m/s e mantida durante 2 min, seguidos de mais 2 min a 8,5 m/s. O desaquecimento foi realizado conforme descrito anteriormente.

Previamente à cateterização da artéria facial, os animais foram mantidos em jejum alimentar de 12 horas. O procedimento foi realizado com os animais em posição quadrupedal, contidos por tronco e anestesiados segundo protocolo de neuroleptoanalgesia descrito a seguir: tranquilização com acepromazina 1%⁵ na dose de 0,1 miligrama por quilograma de peso corpóreo (mg/kg) por via intramuscular (IM);

⁴ Esteira Rolante Galloper – Sahinco Indústria Comércio e Representações Ltda., Palmital – SP (Processo FAPESP nº 01/02207-4)

⁵ Acepran® 1% – UNIVET S/A, São Paulo – SP

passados 20 minutos, administrou-se meperidina (cloridrato de petidina)⁶ na dose de 2 mg/kg, IM.

Após tricotomia e anti-sepsia rigorosas da região ventro-lateral do ramo horizontal da hemimandíbula direita (crânio-ventral ao músculo masseter), o pulso da artéria facial direita foi identificado por palpação, onde realizou-se anestesia local infiltrativa com 5 mililitros (mL) de cloridrato de lidocaína 2%, sem vasoconstritor⁷. Após verificação da eficácia do procedimento anestésico, iniciou-se o procedimento cirúrgico por incisão de pele de 4 centímetros (cm), iniciada 3 cm acima do aspecto ventral do ramo horizontal da mandíbula, em sentido oblíquo de rostro-dorsal a caudo-ventral; divulsão com tesoura romba do tecido subcutâneo; identificação das estruturas anatômicas relacionadas à região; identificação visual da artéria facial direita e por palpação de seu pulso.

Em seguida procedeu-se a dissecação da artéria de sua bainha e isolamento com pinça hemostática Halsted curva introduzida entre a porção medial da artéria e a mandíbula; aplicação de 2 drenos de penrose⁸ de 4 mm de largura envolvendo a artéria (Figura 1A) em dois pontos cranial e caudal, mantidos sob média tensão pelo cirurgião auxiliar, a fim de garantir apoio e evitar danos ao vaso.

Realizou-se punção da artéria facial com agulha 40mm x 12GA⁹ (Figura 1B). Observa-se que a perfuração não deve ser maior do que o diâmetro do cateter de poliuretano¹⁰ de 20 cm, porém o suficiente para introduzi-lo sem lesar ou transpassar o vaso. Antes de ser posicionado na artéria, o cateter foi preenchido com 1,2 mL de solução ácido ascórbico¹¹ a 10% contendo 5000 UI de heparina sódica¹² por mL e, vedado com um adaptador PRN¹³.

A introdução do cateter foi realizada em sentido contrário ao fluxo arterial, obstruindo totalmente o ponto de punção e, contendo a hemorragia. Após correto

⁶ Petinan® – BioChimico Indústria Farmacêutica Ltda., Itatiaia – RJ

⁷ Xylestesin® 2% (sem vasoconstritor) – Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda., Itapira – SP

⁸ Dreno de Penrose

⁹ BD PrecisionGlide™ – Agulha Hipodérmica – Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., Curitiba – PR

¹⁰ Central Venous Catheterization Set – REF CV-04701 – Arrow International, Inc., USA

¹¹ Asceína 500mg – Hipolabor Farmacêutica Ltda., Sabará – MG

¹² Heptar Heparina Sódica – EUROFARMA Laboratórios Ltda., São Paulo – SP

¹³ BD Luer-Lok™ – PRN Adapter – Becton Dickinson, USA

posicionamento do cateter, sua asa de fixação foi suturada ao tecido subcutâneo e pele com um único ponto simples utilizando-se fio de nylon monofilamento nº 1¹⁴ (Figura 1C). Durante todo o procedimento, a artéria facial e os tecidos circunvizinhos foram irrigados com solução estéril de cloreto de sódio a 0,9% para prevenir ressecamento. Após certificação da hemostasia, realizou-se dermorráfia em pontos simples separados e fixação da porção externa do cateter à pele com um ponto simples, utilizando-se fio de nylon monofilamento nº 1.

Além do adaptador PRN, um grampo específico foi utilizado como segurança para bloquear o fluxo na porção externa do cateter (Figura 1D). Bandagem compressiva estéril foi aplicada no local da cirurgia visando reduzir a formação de seroma e a contaminação.

Foram realizados curativos diários das feridas cirúrgicas mediante limpeza com solução aquosa de povidina-iodo¹⁵ e aplicação de pomada repelente¹⁶. Os animais receberam antibioticoterapia com penicilina¹⁷ na dose de 30000 UI/kg, associadas à estreptomicina na dose de 25 mg/kg, a cada 48 horas, IM, iniciada imediatamente após o procedimento cirúrgico. A sutura de pele foi retirada 7 dias após a cirurgia, sendo que os dois pontos de fixação do cateter foram mantidos.

O cateter posicionado na artéria facial foi irrigado criteriosamente de 8 em 8 horas, de acordo com o seguinte protocolo: abertura da via externa do cateter mediante retirada do adaptador PRN; conexão de seringa de 10 mL; liberação do grampo; aspiração do conteúdo do cateter até a visibilização de sangue arterial vivo; fechamento da via externa com adaptador PRN; irrigação com 5 mL de solução estéril de cloreto de sódio a 0,9%, seguida de 1,2 mL de solução de heparina e ácido ascórbico; bloqueio da via externa com grampo.

¹⁴ Nylon 1 monofilamento, 45 cm – Brasmédica Ltda., São Paulo – SP

¹⁵ Iodo povidine tópico – Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto – SP

¹⁶ Ungüento Plus® – Eurofarma Laboratórios Ltda., Rio de Janeiro – RJ

¹⁷ Multibiótico Reforçado – Indústria Farmacêutica Vitalfarma Ltda., São Sebastião do Paraíso – MG

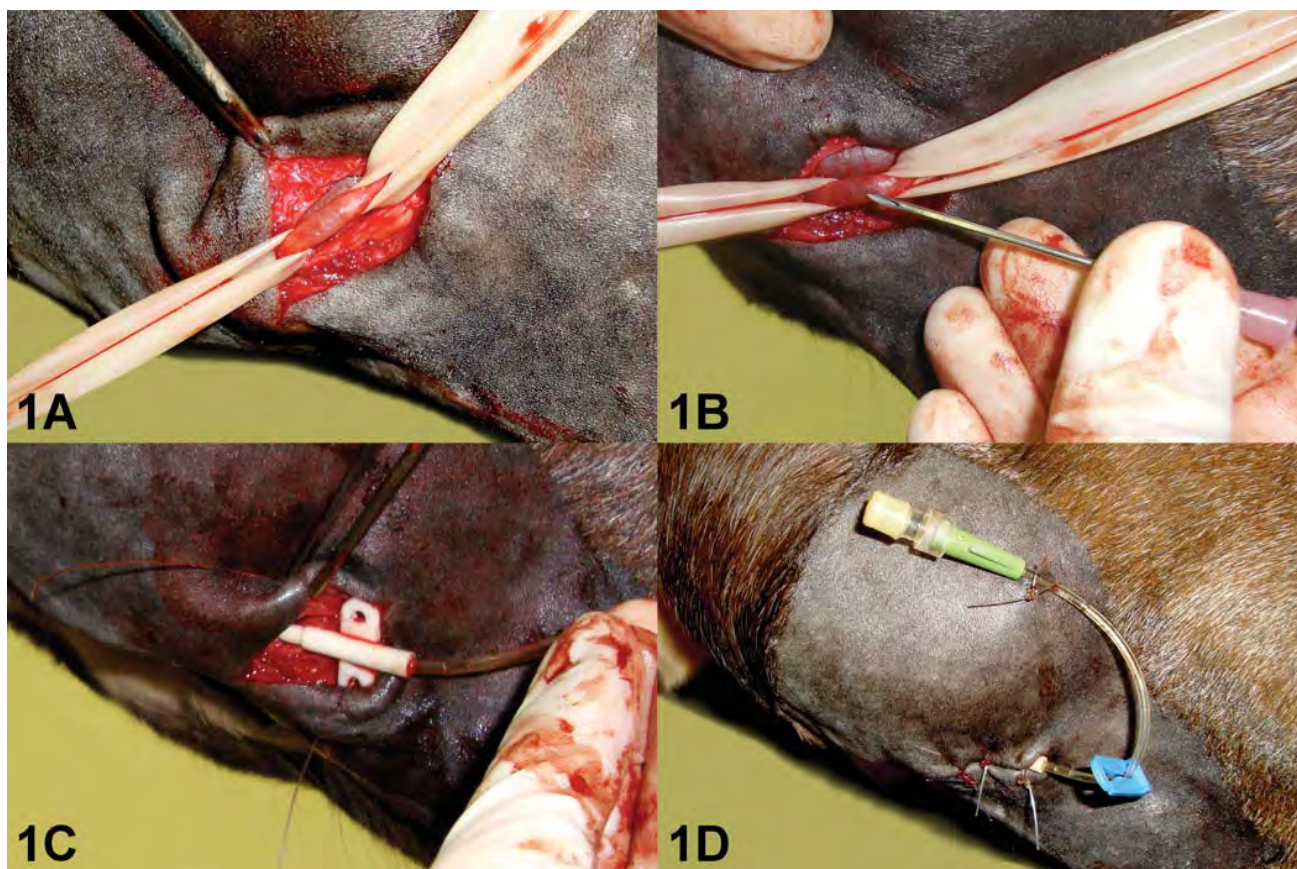


Figura 1. A- Drenos de Penrose envolvendo a artéria facial; B- Punção arterial; C- Sutura de fixação do cateter; D- Aspecto ao final do procedimento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

Colheitas de sangue arterial e medidas de PAM em milímetros de mercúrio (mmHg) foram realizadas durante um exercício teste (ET) de esforço progressivo realizado 24 h após a implantação do cateter na artéria facial, evitando assim interferência dos agentes anestésicos utilizados no procedimento cirúrgico. Os animais foram conduzidos até a esteira e, já sobre a manta de rolagem, o cateter arterial foi conectado a transdutor de pressão¹⁸ por meio de tubo extensor de 2,4 m de comprimento preenchido com solução estéril de cloreto de sódio a 0,9% heparinizada (10 UI de heparina por mL de solução). O transdutor foi fixado sobre uma barra estável do equipamento na altura da articulação escapulo-umeral de cada animal, considerando-se a relação da articulação com a altura do átrio direito e, corrigido com a

¹⁸ Domus – Transdutor de pressão – Medex do Brasil Produtos Hospitalares Ltda. – São Paulo – SP

pressão atmosférica. Os dados de PAM foram registrados por monitor multiparamétrico¹⁹.

A duração total de cada teste foi de 80 minutos, incluindo 45 minutos de exercício, rigorosamente cronometrado segundo protocolo descrito na tabela 1. Após cinco minutos de repouso e já registrando a PAM, iniciou-se o exercício por fase de aquecimento que incluiu 10 min. de passo e 5 min. de trote. O exercício progressivo foi iniciado com trote alongado à velocidade de 4,5 m/s e, avançou em 1 m/s a cada 3 min. até 8,5 m/s (galope) apresentando assim 5 etapas de 3 min. cada. Finalmente, os equinos realizaram fase de desaquecimento, que incluiu 5 min. de trote e 10 min. de passo, seguida de fase de recuperação de 30 min. em repouso. O ET proposto foi considerado de intensidade moderada.

Tabela 1. Protocolo do exercício teste em esteira rolante. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

Fases	Duração	Velocidade	Momentos de avaliação	Tempo cumulativo
REPOUSO	5'	0 m/s	M0	4'
AQUECIMENTO	10'	1.7 m/s	M1	14'30"
	5'	3.5 m/s	M2	19'30"
EXERCÍCIO PROGRESSIVO	3'	4.5 m/s	M3	22'30"
	3'	5.5 m/s	M4	25'30"
	3'	6.5 m/s	M5	28'30"
	3'	7.5 m/s	M6	31'30"
	3'	8.5 m/s	M7	34'30"
DESAQUECIMENTO	5'	3.5 m/s	M8	39'30"
	10'	1.7 m/s	M9	49'30"
REPOUSO	30'	0 m/s	M10	65'
			M11	80'

Colheitas de sangue arterial e registros de PAM foram executados em 12 momentos (M0 a M11), sendo M0 30 segundos (s) antes do início do exercício. Durante o exercício, as amostras foram tomadas em movimento, a 30 s antes de cada mudança de velocidade. Na fase de recuperação, M10 e M11 foram efetuados respectivamente aos 15 e 30 min. após o término do exercício.

¹⁹ Digimax 5000 – Digicare Tecnologia Biomédica Ltda., Rio de Janeiro - RJ (Processo FAPESP nº 95/2763-1)

Os cateteres foram removidos 25 dias após sua implantação e, durante este período, amostras de sangue arterial foram colhidas e a manutenção dos cateteres foi realizada conforme já descrito. Após preparação estéril, uma pequena incisão de 0,5 cm foi realizada junto ao ponto de inserção do cateter à pele de modo a expor sua asa de fixação. Os pontos foram removidos e o cateter retirado mediante tração seguida de 5 minutos de hemostasia compressiva sobre gaze estéril. As feridas foram tratadas com iodo-povidine aquoso e pomada repelente, cicatrizando por segunda intenção.

Os dados estão demonstrados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM).

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica de cateterização da artéria facial empregada, se demonstrou de fácil e rápida realização, não ocorrendo complicações intra-operatórias. O tempo cirúrgico variou entre 15 e 40 min, sendo esta variação atribuída à experiência adquirida pelo cirurgião ao longo do experimento. Os cateteres apresentaram-se prontos a serem utilizados imediatamente após sua implantação.

Todas as feridas cirúrgicas cicatrizaram por primeira intenção, não ocorrendo infecções pós-operatórias. Os animais não apresentaram sinais de desconforto frente ao cateter. Observou-se edema local, que se desenvolveu 6 horas após a cirurgia e desapareceu em três dias.

Os cateteres foram irrigados conforme descrito, de 8 em 8 horas, se mantendo viáveis por um período de 25 dias. Não foram observadas reações adversas a solução de preenchimento contendo ácido ascórbico e heparina.

O ET de esforço progressivo foi realizado sem complicações e todas as colheitas de sangue arterial e registros de PAM foram executados conforme proposto. Valores de PAM obtidos durante o ET encontram-se na figura 2. Os dados de PAM foram apresentados no sentido de ilustrar a eficácia da utilização do cateter implantado na artéria facial para avaliações hemodinâmicas durante o exercício em esteira rolante. Portanto, não serão confrontadas as diferenças entre os valores obtidos.

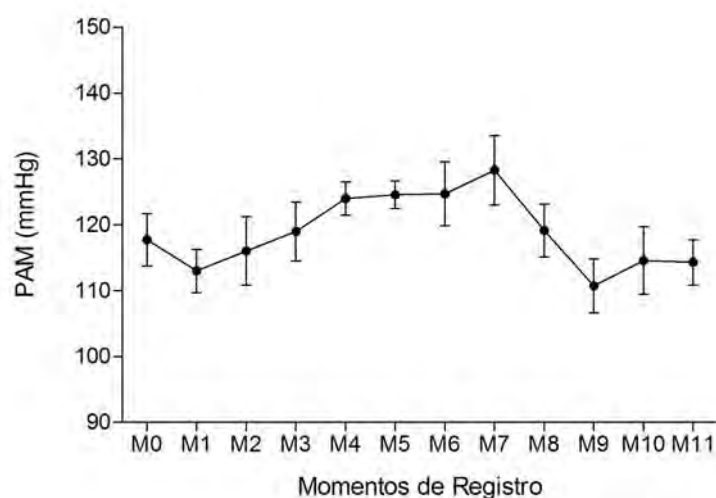


Figura 2. Representação gráfica dos valores médios $\pm$ EPM da PAM (mmHg), de equinos durante o repouso e no exercício em esteira rolante (M0-M11). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

Colheitas de sangue arterial e mensurações fidedignas de pressão arterial são parâmetros importantes a serem obtidos em diferentes protocolos experimentais. A avaliação não invasiva de pressão arterial, oferece a vantagem de ser realizada prontamente sem a necessidade de instrumentação invasiva. Entretanto, a acurácia das medidas pode ser afetada por diferentes fatores como a movimentação do animal, o pulso arterial e a dimensão do balonete do equipamento (PARRY et al., 1984; PICCIONE et al., 2009), tornando impossível o uso deste método nas avaliações de PAM durante o exercício. As vantagens das técnicas invasivas incluem maior acurácia e obtenção de medidas batimento a batimento.

O reposicionamento cirúrgico da artéria carótida junto ao tecido subcutâneo ou transposição da artéria carótida tem sido realizado em equinos viabilizando a punção arterial percutânea. Entretanto, esta técnica permite o acesso arterial apenas duas semanas após o procedimento cirúrgico e, ainda, as punções são viáveis apenas ocasionalmente pois se realizadas repetitivamente, resultam na formação de hematoma no tecido periarterial. Além disso, as punções arteriais são dolorosas causando estresse ao animal, o que pode afetar os resultados dos gases sanguíneos (ORSINI & ROBY, 1997). Contrariamente ao observado em técnicas para o acesso à artéria carótida, a técnica de canulação da artéria facial proposta neste estudo permite o acesso indolor

no dia seguinte à implantação do cateter. PRASSINOS et al. (2001) observaram que arcos realizados na artéria carótida em pequenos ruminantes permitem a cateterização de 10 a 20 vezes dentro de um período de 3 a 5 meses e a transposição da artéria carótida em equinos permite o acesso de 10 a 20 vezes dentro de um período de até 12 meses. No presente estudo, a via obtida na artéria facial de equinos foi usada por um período mais curto, entretanto o número de acessos foi ilimitado.

Por meio da cateterização da artéria carótida transposta, TAVERNOR (1969) obteve registros contínuos de pressão arterial em equinos conscientes e, EVANS & ROSE (1988) colheram sangue arterial de equinos da raça Puro Sangue Inglês durante o exercício em esteira. Ainda, HÖRNICKE et al. (1977) realizaram medidas de pressão arterial no repouso e no galope ($9,13 \pm 1,5$ m/s). MAGDESIAN (2004) demonstrou a viabilidade da cateterização da artéria facial transversa no equino em posição quadrupedal para a monitoração da pressão arterial e, MARQUES & MASSONE (1988) realizaram colheita de sangue arterial via cateter implantado cirurgicamente na artéria facial. Infelizmente, nenhum destes autores descrevem seus métodos para irrigar o cateter implantado na artéria entre as avaliações e, ainda, não indicam o período de manutenção da via arterial obtida. No presente ensaio, a solução associando ácido ascórbico e heparina utilizada na irrigação de cateteres implantados na artéria facial, provou ser efetiva na manutenção da patência da via arterial por 25 dias. Além disso, o ácido ascórbico tem custo baixo e não apresenta efeitos colaterais na quantidade usada para preenchimento das cânulas.

DUECK et al. (1982) observaram que durante a avaliação da pressão arterial de cães e ovinos em repouso, a formação de trombo no interior da cânula implantada em artérias carótidas transpostas foi evitada pela infusão contínua e sob pressão de solução estéril de cloreto de sódio a 0,9% heparinizada (10 UI/mL). Para a realização seriada de medidas de pressão arterial e colheitas de sangue é fundamental a irrigação do cateter antes de cada medida ou colheita, permitindo a obtenção de dados confiáveis. Observações realizadas na rotina experimental da instituição onde foi desenvolvida esta pesquisa, indicam que durante avaliações de pressão arterial e colheitas de sangue de carótidas transpostas em equinos, alguns animais "desmaiam"

no momento da irrigação do cateter implantado na artéria, mesmo quando o procedimento é realizado lentamente. É possível que este acidente seja devido a resposta de barorreceptores presentes no seio carotídeo. O aumento local da pressão no momento da irrigação ativa o barorreflexo, reduzindo a pressão arterial no sentido de evitar lesão cerebral (HEYMANS & NEIL, 1958) e, o animal cai. Esta séria complicação não foi observada ao se irrigar os cateteres implantados na artéria facial de equinos segundo protocolo descrito neste estudo, evitando-se riscos para os equinos e para a equipe.

Não foram observadas complicações na remoção dos cateteres e cinco minutos de compressão sobre a arteriotomia foram suficientes para conter a hemorragia, não havendo necessidade de realização de arteriorrafia como descrito por DUECK et al. (1982) para canulações da artéria carótida.

A técnica descrita no presente estudo superou as limitações oferecidas por outras técnicas, permitindo grande número de avaliações experimentais durante período jamais proposto anteriormente. Além disso, não há risco de deslocamento do cateter para fora do lúmen arterial durante avaliações no exercício em esteira, mesmo no galope a altas velocidades. O procedimento cirúrgico pode ser realizado apenas com tranquilização dos animais, evitando-se os riscos da anestesia geral e reduzindo os custos. Embora o período de 25 dias de avaliação possa ser considerado limitado, tal período de manutenção da patência de cateteres arteriais nunca foi proposto para equinos. Desvantagens do procedimento incluem o caráter invasivo do método, inviabilizando-o para o uso na rotina hospitalar e, a necessidade de irrigação do cateter a cada 8 horas, com o risco de entupimento da via arterial caso o procedimento não seja realizado rigorosamente.

Não há relatos sobre a implantação cirúrgica de cateter de poliuretano longo na artéria facial de equinos e manutenção da patência das cânulas com o uso de solução de ácido ascórbico e heparina como solução de preenchimento. A técnica utilizada se demonstrou ser de fácil realização, fornecendo acesso arterial invasivo viável para a mensuração da pressão arterial e colheita de amostras sanguíneas durante protocolos experimentais com equinos, especialmente para estudos cardiovasculares dinâmicos.

CAPÍTULO 3 – PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE INDUÇÃO EXPERIMENTAL DE TROMBOFLEBITE JUGULAR EM EQUINOS

RESUMO

A trombose se desenvolve como resultado de três fatores, descritos por Virchow, incluindo lesão na parede venosa, baixo fluxo sanguíneo e alterações no processo de coagulação sanguínea. A tríade de Virchow é a base para o desenvolvimento de modelos de indução de trombose experimental em diferentes espécies. Na medicina, a esclerose química é uma técnica bastante difundida para tratamento de lesões vasculares, pois produz trombose, seguida de fibrose, reduzindo ou eliminando as lesões. O oleato de etanolamina tem sido usado como agente esclerosante em virtude de suas excelentes propriedades trombosantes. Até o presente momento, há apenas um trabalho demonstrando um modelo para indução experimental de tromboflebite na veia jugular de equinos. O presente estudo propõe o estabelecimento de um modelo padronizado de indução experimental de tromboflebite da veia jugular de equinos associando dois fatores da tríade de Virchow: lesão endotelial pela administração de dois agentes esclerosantes associados (glicose 50% e OE 5%) e oclusão momentânea do fluxo sanguíneo por manobra manual. Foram utilizados dezoito equinos adultos avaliados previamente quanto a higidez das veias jugulares antes do procedimento de indução. A indução foi realizada por meio de injeção de solução de 12 ml de OE 5% e 20 ml de glicose 50%. Todos os animais desenvolveram trombose na veia jugular em diferentes graus, pré-determinados em uma escala de lesão vascular, mostrando que o modelo de indução proposto foi efetivo em provocar a tromboflebite jugular em equinos. Observa-se que o período de maior evolução do trombo se encontra nas primeiras 4 horas subsequentes ao estímulo de indução da tromboflebite jugular experimental, sendo este é o principal período para intervenção terapêutica.

Palavras-chave: equino; etanolamina; indução; tromboflebite jugular

3.1. INTRODUÇÃO

A trombose se desenvolve como resultado de três fatores, descritos por VIRCHOW (1856), incluindo lesão da parede venosa, baixo fluxo sanguíneo e alterações no processo de coagulação sanguínea. Tais fatores, combinados ou não, provocam falha no organismo em manter a fluidez sanguínea, levando à formação dos trombos (KASHYAP & QUIÑONES–BALDRICH, 2000).

Na escolha de um modelo experimental, deve-se avaliar a possibilidade e aplicabilidade do modelo em outras espécies animais, considerando se os resultados obtidos em uma determinada espécie são extrapoláveis para as outras. Devido à alta incidência de enfermidades tromboembólicas em humanos, modelos experimentais de trombose têm sido desenvolvidos em diferentes espécies (ROLLO et al., 1991; SPOKAS & WUN, 1992; SIGEL et al., 1994; HUPKENS & COOLEY, 1996; FEUERSTEIN et al., 1999; VAN ZYL et al., 2000; LIN et al., 2001). A intenção final para a trombose e, para qualquer enfermidade induzida experimentalmente, sempre é o desenvolvimento de estratégias terapêuticas visando otimizar a recuperação de pacientes humanos e animais.

Um fator importante a ser considerado, quando extrapola-se dados experimentais entre espécies, é a diferença entre as mesmas. Sabe-se que o tamanho das hemácias e componentes do plasma diferem entre as espécies. BASKURT et al. (1997) compararam a agregação de hemácias, observando que as hemácias dos equinos apresentam maior tendência a se agregarem *in vitro*, quando comparadas às hemácias de humanos e ratos. Portanto, métodos utilizados na indução de trombose em ratos e humanos, poderiam reproduzir de forma viável a lesão em equinos, considerando-se as diferentes dimensões.

Na prática da médica, a esclerose química é amplamente difundida para tratamento de lesões vasculares, pois produz trombose seguida de fibrose, reduzindo ou eliminando as lesões (ZANETTINI et al., 2005). O oleato de etanolamina (OE) tem sido usado como agente esclerosante devido às suas excelentes propriedades trombosantes. A injeção do agente em varizes, promove trombogênese como resultado

da lesão química da parede vascular (CHOI et al., 2002). O OE é classificado como esclerosante de ação detergente, por atuar nos lipídios da membrana celular (MIYAKE et al., 2003).

O OE é uma combinação sintética de 2-hidroxietilamina com ácido oléico que age superficialmente na membrana plasmática. As bicamadas lipídicas da membrana são compostas principalmente por fosfolipídios, que apresentam superfície muito mais hidrofóbica que o OE. Assim, quando o fármaco se aproxima da membrana plasmática, este facilmente se adere e penetra na bicamada lipídica, rompendo a integridade da membrana (IWASAKI et al., 1995).

Sendo um sal de ácidos graxos insaturados, o OE é um surfactante aniônico, cujos efeitos podem ser explicados pela característica geral dos surfactantes. Estes podem solubilizar proteínas na superfície celular ou aumentar a permeabilidade da membrana, por meio de alterações conformacionais das proteínas de superfície (MASAKI et al., 1990).

O efeito farmacológico esperado para o OE é a destruição das células endoteliais, o acúmulo de fibrina e de plaquetas na superfície vascular lesionada, a oclusão do fluxo sanguíneo por trombose e a retração do trombo oclusivo até a organização (NISHIKAWA et al., 2006). A ação do fármaco se inicia no primeiro minuto após a injeção (MASAKI et al., 1990). Observa-se fibrose no epitélio vascular e resposta inflamatória que se estende extravascularmente (HONG et al., 2010). O componente ácido oléico é o responsável pela indução da reação inflamatória (KIRIPOLSKY, 2010).

No sentido de esclarecer os mecanismos de formação de trombo subsequente à injeção de OE, MASAKI et al. (1990) estudaram os efeitos farmacológicos do OE na coagulação sanguínea em humanos. A tromboelastografia, tradução gráfica do processo fisiológico que determina a formação do coágulo, não mostrou aceleração na coagulação em nenhuma das concentrações de OE testadas, sugerindo que a formação do trombo é devida à lesão endotelial seguida de agregação plaquetária e de fibrina.

Em humanos, o OE é quebrado em etanolamina e ácido oléico imediatamente após o influxo na circulação sistêmica, sendo metabolizados por diferentes vias.

Aproximadamente 50% do ácido oléico se liga às proteínas séricas 30 minutos após a infusão. A eliminação se dá pelo sistema porta hepático (CHOI et al., 2002).

Hemólise intravascular e hemoglobinúria foram observadas após a administração de OE (IWASAKI et al., 1995; CHOI et al., 2002). Entretanto, em doses terapêuticas, o fármaco é inativado pela formação de micelas (estruturas globulares formadas por agregado de moléculas surfactantes) com os fosfolipídios da membrana e, ainda, pela ligação com albumina e globulinas séricas (IWASAKI et al., 1995; DAS & HOQUE, 2008). Toxicidades renal e hepática podem ocorrer associadas à administração de OE e, devem ser checadas (CHOI et al., 2002).

A solução de glicose hipertônica (50% ou 75%), introduzida como agente esclerosante por KAUSCH em 1917, ainda é o esclerosante mais empregado por ser eficiente, de baixo custo e praticamente isento de complicações graves como alergias, reações sistêmicas e necroses. A solução de glicose apresenta ação osmótica, causando desidratação das células do endotélio levando à sua destruição. O OE é comumente empregado em associação com soluções de glicose 50% ou 75% (MIYAKE et al., 2003).

Até o presente momento, há apenas um trabalho descrevendo um modelo de indução experimental de tromboflebite jugular em equinos (HUSSNI et al., 2009). Os autores propõe o acesso cirúrgico ao vaso; oclusão de um segmento venoso de cinco centímetros com o uso de duas pinças hemostáticas por 15 min.; ligadura cirúrgica com nó cerrado por fora da pele, que permaneceu por 72 horas; esvaziamento do sangue contido no segmento isolado, seguido de preenchimento do lúmen vascular com solução de glicose 50%. A lesão vascular se dá pela ação osmótica da glicose sobre o endotélio.

O sucesso da escleroterapia com OE depende da extensão do contato do esclerosante com o endotélio vascular. Assim, a terapia se torna mais efetiva quanto menor o lúmen vascular e quanto mais baixo for o fluxo sanguíneo. Se o fármaco se diluir em grandes espaços vasculares ou se for levado pelo fluxo, os efeitos esclerosantes serão mínimos ou ausentes. A compressão manual do fluxo é manobra conveniente para manter o esclerosante no segmento desejado, entretanto, a oclusão

incompleta pode fazer com que o fármaco extravase limitando a sua ação (CHOI et al., 2002). Portanto, o desafio deste estudo se encontra, além de testar a ação do fármaco no endotélio equino, em promover a oclusão manual do fluxo jugular no sentido de favorecer a ação do fármaco produzindo a trombose experimental sem intervenção cirúrgica.

Assim, neste ensaio propõe-se o estudo de um modelo padronizado de indução experimental de tromboflebite jugular de equinos associando dois fatores da tríade de Virchow, a lesão endotelial pela administração de dois agentes esclerosantes associados (glicose 50% e OE 5%) e oclusão a momentânea do fluxo sanguíneo por compressão digital. Objetiva-se ainda avaliar as primeiras horas do desenvolvimento da trombose, buscando determinar o melhor momento de intervenção terapêutica.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo experimental realizado no presente estudo está de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / Unesp – Câmpus de Jaboticabal (Protocolo nº 004302-06).

Foram utilizados dezoito equinos adultos, sete machos e onze fêmeas, SRD, com idade média de 11 ± 2 anos e peso médio de 301 ± 7 kg. Considerados hígidos de acordo com avaliação clínica, todos os animais passaram por programas de desverminação, vacinação e controle de ectoparasitas antes de iniciar o período experimental.

Os animais foram mantidos em baias individuais e receberam como alimentação: 1% do peso corpóreo em alimento volumoso, constituído de feno de Tifton (*Cynodon dactylon*); 1% do peso corpóreo em ração concentrada; sal mineral e água *ad libitum*.

O procedimento de indução da tromboflebite jugular e todas as avaliações ultrassonográficas foram realizadas com o animal em posição quadrupedal, contido por tronco e cabresto mantido por pessoa experiente.

Anteriormente à indução da tromboflebite, realizou-se ultrassonografia da veia jugular esquerda para determinar sua higidez e identificar possíveis ramos vasculares. O segmento de indução (SI) foi escolhido em porção isenta de ramos, garantindo assim a permanência da solução no SI durante o período de indução, tendo em vista que a oclusão manual do fluxo sanguíneo é efetiva somente na veia jugular.

Após tricotomia e anti-sepsia rigorosas da região cervical ventrolateral esquerda, os animais foram tranquilizados com acepromazina 1% na dose de 0,1 mg/kg e realizou-se a anestesia local infiltrativa com 0,5 mL de cloridrato de lidocaína 2%, sem vasoconstritor, no ponto de punção onde foi implantado cateter de polietileno 14 GA²⁰ na veia, através do qual a solução seria injetada. A punção para implantação do cateter deve ser precisa e única, pois outras perfurações na parede vascular permitiriam o extravazamento da solução de indução. Passados 20 minutos da tranquilização, a indução de tromboflebite da veia jugular esquerda foi realizada por meio de injeção de solução de 12 mL de oleato de etanolamina 5%²¹ e 20 mL de glicose 50%²², formando uma espuma. No momento da injeção, realizou-se pressão digital sobre a veia, cranial e caudalmente ao ponto de punção, 15 cm equidistantes, limitando o SI, de forma a ocluir o fluxo sanguíneo, manobra esta mantida ininterruptamente por 15 minutos (Figura 3).

²⁰ BD Insyte™ 14 GA x 1.75 IN – Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., Juiz de Fora – MG

²¹ Ethamolin – Zest Farmacêutica Ltda., Rio de Janeiro – RJ

²² Glicose 50% – Samtec Biotecnologia Ltda., Ribeirão Preto – SP

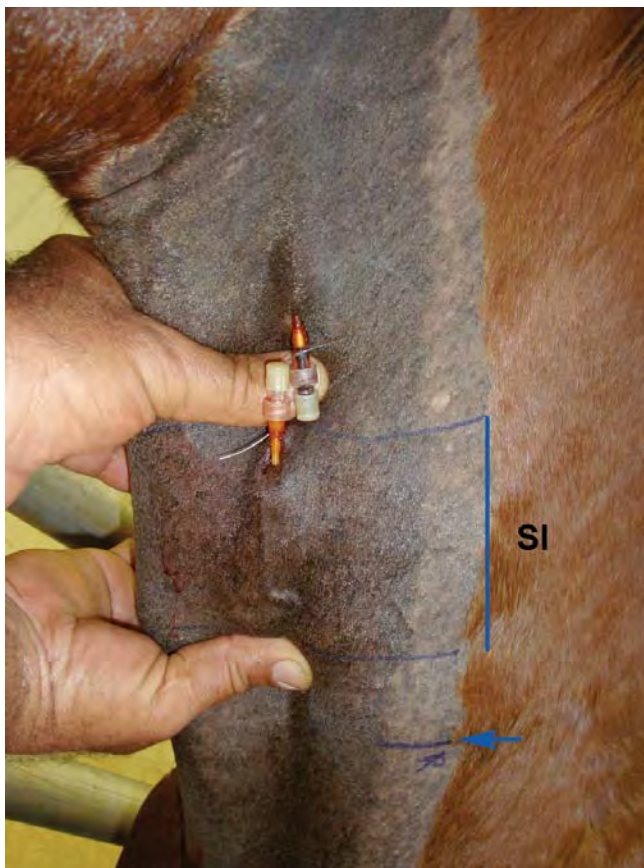


Figura 3. Manobra de oclusão digital do fluxo sanguíneo da veia jugular no momento da indução da tromboflebite. A linha indica a extensão do SI e a seta indica a localização de um ramo vascular, previamente identificado na avaliação ultrassonográfica. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

As avaliações ultrassonográficas foram realizadas utilizando-se transdutor linear de 7,5 Mhz²³ nos momentos imediatamente anterior à indução e às 2, 4, 6, 12, 24 e 48 horas após a indução. Foi realizada uma última avaliação, 15 dias após a indução, quando os animais foram submetidos à eutanásia. As observações foram feitas nas porções cranial ao SI, no SI e caudal ao SI, onde foram avaliadas as características do fluxo sanguíneo, da parede vascular, do trombo e dos tecidos circunvizinhos. Quando a veia jugular não se apresentava dilatada espontaneamente devido ao trombo 100% oclusivo ou, ao enrijecimento da parede vascular, oclusão por pressão digital caudal ao SI foi realizada para provocar distensão e facilitar a visualização do trombo no interior do vaso.

²³ Pie Medical – Scanner 200 VET (Processo FAPESP nº 98/133329-9)

Visando quantificar as lesões obtidas, criou-se escala graduada (0 a 7) de lesão vascular classificando os trombos de acordo com a avaliação ultrassonográfica, conforme descrito na tabela a seguir:

Tabela 2. Escala graduada de lesão vascular. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

Grau de lesão	Alteração encontrada
Grau 0	Sem alteração
Grau I	Flebite
Grau II	Tromboflebite até 25% oclusiva
Grau III	Tromboflebite de 25% a 50% oclusiva
Grau IV	Tromboflebite de 50% a 75% oclusiva
Grau V	Tromboflebite de 75% a 100% oclusiva
Grau VI	Tromboflebite 100% oclusiva – Observação dos limites do trombo
Grau VII	Tromboflebite 100% oclusiva – Não observação dos limites do trombo

As avaliações clínicas foram realizadas simultaneamente aos exames ultrassonográficos, observando-se os seguintes parâmetros: atitude e comportamento; frequência cardíaca (FC); frequência respiratória; temperatura retal; pulso; tempo de preenchimento capilar da mucosa oral; reflexo pupilar; motilidade intestinal e temperatura de extremidades (cascos e orelhas).

Os animais foram submetidos a eutanasia 15 dias após a indução da tromboflebite mediante tranquilização com acepromazina 1% na dose de 0,1 mg/kg por via intravenosa (IV), indução anestésica com tiopental sódico²⁴ na dose de 5 mg/kg IV seguida de injeção por via intratecal de cloridrato de lidocaína 2%, sem vasoconstritor, na dose de 2,5 mg/kg.

As avaliações experimentais foram conduzidas segundo delineamento em blocos casualizados, previamente determinado. Os valores atribuídos aos graus de lesão foram transformados em raiz quadrada, obtendo-se assim valores numéricos para os escores de lesão. Posteriormente, tais valores foram submetidos à análise multivariada de medidas repetidas (*One way ANOVA*) e, constatada a significância, aplicou-se o teste *Tukey* ($p < 0,05$) para comparação das médias, utilizando-se o *software* SAS 9.0. Os dados apresentam-se como média $\pm$ erro padrão da média (EPM).

²⁴ Thionembutal 1g - Abbott Laboratórios do Brasil Ltda., São Paulo – SP

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. AVALIAÇÃO CLÍNICA

Não houve diferença significativa ($p>0,05$) nos seguintes parâmetros clínicos mensurados: atitude e comportamento; FC; frequência respiratória; temperatura retal; pulso; tempo de preenchimento capilar na mucosa oral; reflexo pupilar; motilidade intestinal e temperatura das extremidades (cascos e orelhas). Os animais apresentaram ligeira hipertermia, indicando o processo inflamatório ao qual foram submetidos relativo a indução da lesão, entretanto tal aumento não foi significativo.

Todos os animais apresentaram edema superficial, acometendo o tecido subcutâneo e a pele na região do SI, enrijecimento da parede da veia jugular esquerda, e aumento da temperatura local imediatamente após a indução da trombose, indicando inflamação do vaso, como descrito para os casos de tromboflebite clínica (GARDNER et al., 1991; DYSON, 1997; EDENS, 1999).

A consequência mais grave da tromboflebite em humanos, está relacionada ao desprendimento de êmbolos que, ao se alojarem nos pulmões, levam à hipertensão pulmonar e morte (JOFFE & GOLDBERGER, 2002). Nos equinos, a tromboflebite jugular pode ocasionar morte nos casos severos de edema cefálico subsequente à trombose bilateral que, compromete a ventilação devido ao ingurgitamento da laringe e, que provoca hipertensão encefálica lesionando o sistema nervoso central (COMEROTA et al., 1986; KNOTTENBELT & PASCOE, 1994; RIJKENHUIZEN & SWIETEN, 1998; EDENS, 1999; MORRIS, 2000; DIVERS, 2003; KLOHNEN, 2009; MOREAU & LAVOIE, 2009). Outrossim, a tromboflebite é mais comumente observada em animais portadores de enfermidades predisponentes, como síndrome cólica e endotoxemia, submetidos a terapia hospitalar intensiva quando se faz necessário a implantação de cateteres na veia jugular (WHITE II, 1990; KNOTTENBELT & PASCOE, 1994). Assim, como neste estudo a indução da lesão foi realizada em equinos hípidos e unilateralmente, a veia jugular contralateral compensou o fluxo sanguíneo da cabeça e, os animais não

apresentaram alterações clínicas significativas no período de 48 h em que foram avaliados.

Todos os equinos desenvolveram tromboflebite, mas somente um equino apresentou oclusão total da veia jugular esquerda pelo trombo. Avaliou-se o ingurgitamento ao longo de toda a extensão da veia jugular na realização de pressão digital sobre o vaso em posição caudal ao trombo. Na ausência de oclusão total, a veia deveria ingurgitar cranialmente ao SI na manobra de oclusão distal, porém, em alguns animais, a presença de inflamação com enrijecimento da parede vascular, impediu a distensão da mesma. O enrijecimento da parede vascular se deu em momentos diferentes para cada animal. O equino com oclusão total do fluxo pelo trombo apresentou ingurgitamento espontâneo cranial ao SI e, não devido à manobra de oclusão. Na presença de trombo oclusivo 100%, observou-se ligeiro edema ventral à mandíbula do lado esquerdo e mucosa oral levemente congesta no período de 24 horas após a indução, sinais estes que permaneceram até o término das avaliações.

As figuras 4 e 5 destacam o aspecto macroscópico da região cervical após a indução da tromboflebite.

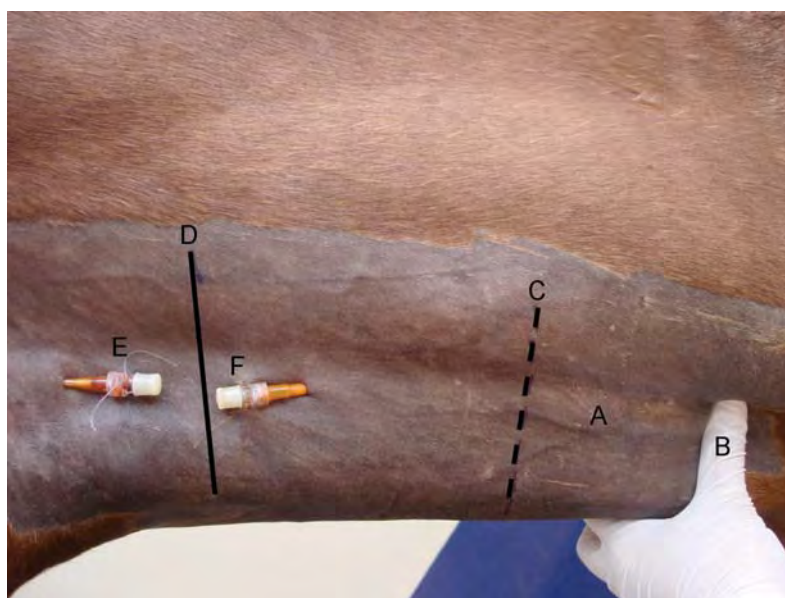


Figura 4. Aspecto macroscópico da região cervical 12 h após a indução da tromboflebite. Trombo grau III. Veia jugular ingurgitada (A) à oclusão caudal por pressão digital (B) até limite caudal do trombo - linha tracejada (C); trombo se estende até linha contínua (D); cateter para avaliação da pressão venosa regional (E) e cateter utilizado para induzir a lesão (F). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

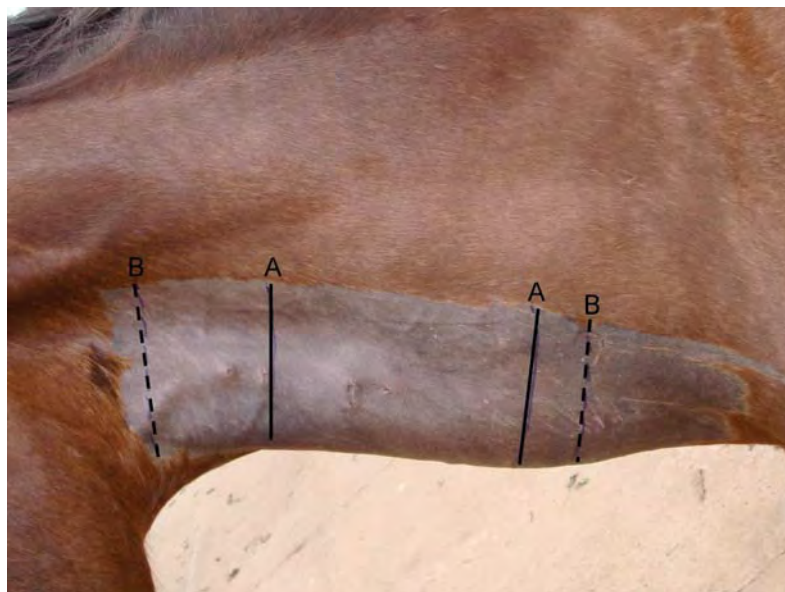


Figura 5. Aspecto macroscópico da região cervical 48 h após a indução da tromboflebite. Trombo grau VI. Linhas contínuas (A) indicam limites da região 100% oclusiva do trombo; linhas tracejadas (B) indicam limites cranial e caudal do trombo. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

3.3.2. AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA

Segundo GARDNER et al. (1991) e KLOHNEN, (2009), nos casos de tromboflebite, a avaliação ultrassonográfica da veia jugular e dos tecidos circunvizinhos é o melhor meio para a caracterização e o monitoramento da extensão e progressão da lesão. O exame ultrassonográfico realizado no presente estudo foi eficaz em evidenciar a presença e características da tromboflebite induzida.

Nos casos de tromboflebite com oclusão parcial pelo trombo, a manobra de oclusão do fluxo sanguíneo por pressão digital é recomendada durante as avaliações ultrassonográficas para se evitar o colapamento do vaso durante o exame (BARBOSA et al., 2009). No presente estudo, tal manobra foi realizada e facilitou as observações. Nas primeiras avaliações, realizou-se a técnica de compressão da veia jugular pelo transdutor descrita por HUSSNI et al., (2009) para equinos como facilitadora do exame. Entretanto, a manobra não facilitou a visibilização dos trombos no interior da veia, pois entende-se que a captação da melhor imagem do lúmen vascular, é no segmento

vascular distendido e, não sobre o ponto de oclusão. Assim, mostrando-se inefetiva, tal manobra deixou de ser realizada.

A ultrassonografia foi eficaz na determinação da hígidez da veia jugular esquerda na avaliação prévia à indução da tromboflebite, indicando a melhor localização para o SI. Imediatamente antes da indução, todos os animais apresentavam a veia jugular esquerda sem lesões macroscópicas, colabada e distensível ao garrote caudal. As figuras 6 e 7 mostram o aspecto sonográfico normal da veia jugular que aparece colabada e, o aspecto dilatado à oclusão caudal. A avaliação foi realizada imediatamente antes da indução da tromboflebite.

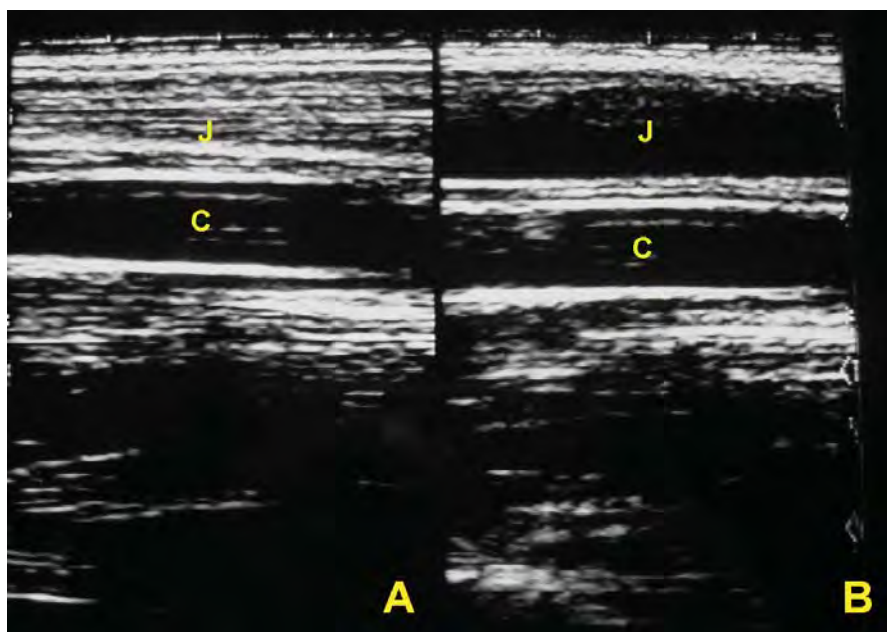


Figura 6. A – Imagem ultrassonográfica em secção longitudinal da veia jugular (J) colabada e artéria carótida externa (C), imediatamente antes da indução da tromboflebite; **B** – Imagem ultrassonográfica em secção longitudinal da veia jugular distendida à oclusão caudal do fluxo sanguíneo e artéria carótida, imediatamente antes da indução da tromboflebite. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

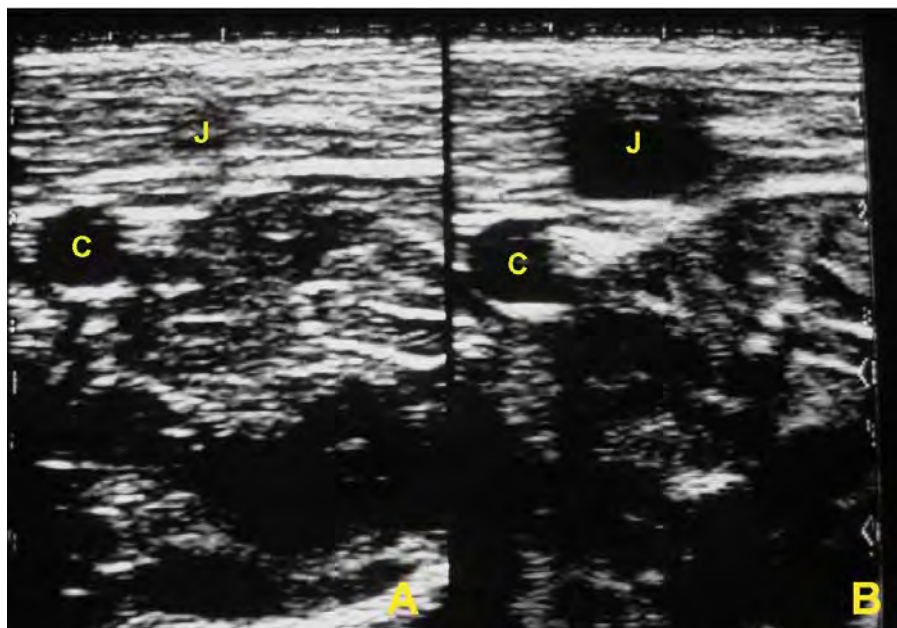


Figura 7. A – Imagem ultrassonográfica em secção transversal da veia jugular colabada (J) e artéria carótida externa (C), imediatamente antes da indução da tromboflebite; **B** – Imagem ultrassonográfica em secção transversal da veia jugular (J) distendida à oclusão caudal do fluxo sanguíneo e artéria carótida (C), imediatamente antes da indução da tromboflebite. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

Duas horas após a indução, 16 animais apresentaram formação de trombo em diferentes graus, segundo escala de lesão vascular já descrita, identificados pelo exame ultrassonográfico como massa ecogênica aderida à parede venosa, na maioria das vezes na porção medial. Quatro horas após, todas as veias jugulares submetidas à indução apresentavam trombo e, em dois animais o grau de lesão aumentou em relação à avaliação anterior. Passadas seis horas da indução, três animais aumentaram o grau de lesão em relação à avaliação anterior. Doze horas após a indução, três animais aumentaram e um diminuiu o grau de lesão em relação à avaliação anterior. Vinte e quatro horas após a indução, todos os animais apresentavam enrijecimento da parede venosa e presença de edema perivascular; três animais apresentaram aumento do grau de lesão vascular, sendo um animal apresentando tromboflebite 100% oclusiva (Grau VI), observando-se dilatação espontânea do vaso no segmento proximal ao trombo. Passadas quarenta e oito horas, dois animais apresentaram aumento do grau de lesão vascular e, os demais, permaneceram estabilizados.

Os valores médios e o EPM dos escores de lesão vascular e as respectivas diferenças estão representados na tabela 3 e na figura 8, onde se observa que o período de maior evolução do trombo encontra-se nas primeiras 4 horas subsequentes ao estímulo de indução da tromboflebite experimental, mostrando que a lesão se desenvolve rapidamente, considerando-se este, o principal período para intervenção terapêutica.

Tabela 3. Valores médios $\pm$ EPM dos escores de lesão vascular ao longo do tempo em horas (h). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

ESCORES	TEMPO (h)						
	0	2	4	6	12	24	48
	1,00 ^a	1,75 ^b	1,88 ^{bc}	1,94 ^c	1,96 ^c	2,01 ^c	2,05 ^c
	$\pm 0,05$	$\pm 0,05$	$\pm 0,02$	$\pm 0,02$	$\pm 0,02$	$\pm 0,02$	$\pm 0,03$

Letras minúsculas representam diferenças entre os tempos de observação ($p < 0,05$).

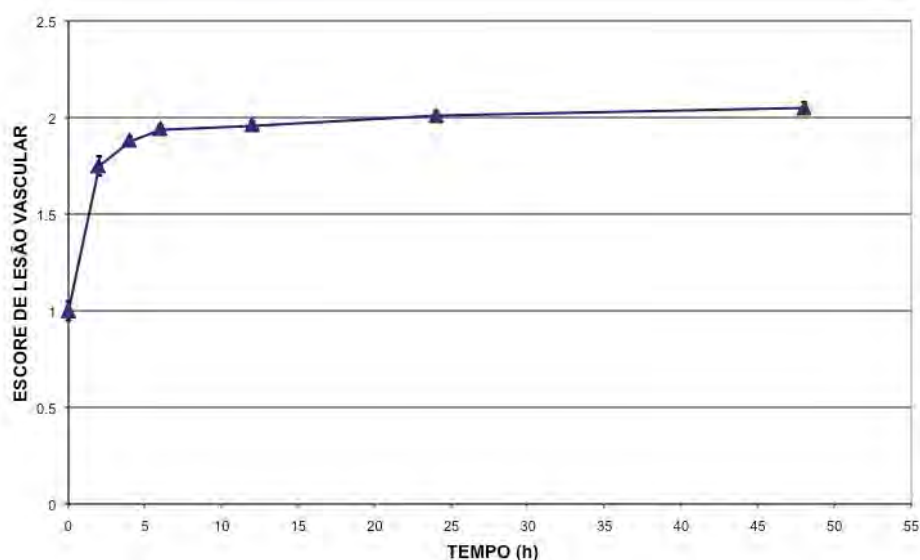


Figura 8. Valores médios $\pm$ EPM dos escores de lesão vascular ao longo do tempo em horas (h). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

As figuras 9 a 16 mostram diferentes momentos de avaliação ultrassonográfica, contendo diferentes graus de tromboflebite jugular desenvolvida pelos equinos.

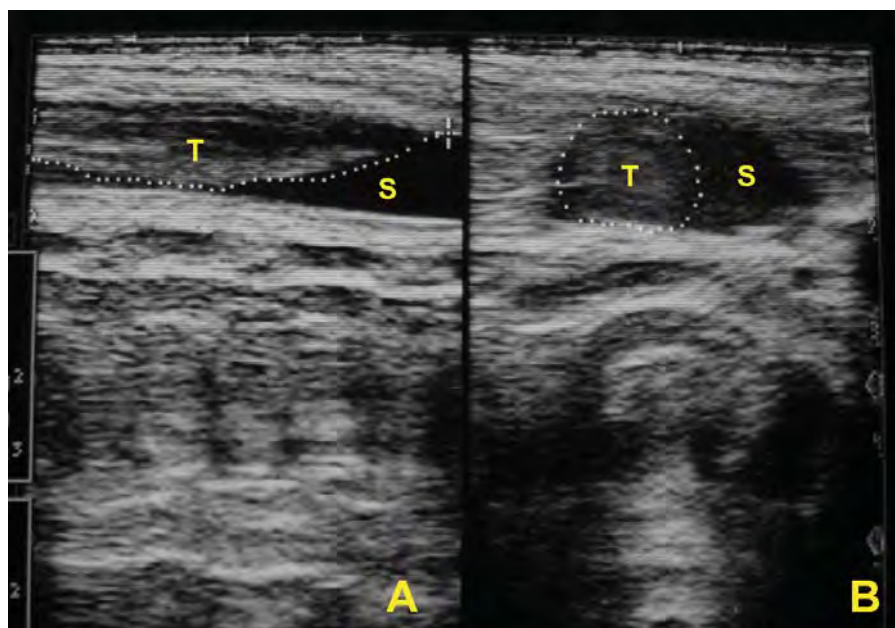


Figura 9. **A** – Imagem ultrassonográfica em secção longitudinal da veia jugular contendo trombo grau IV (T) e sangue (S), 2 h após a indução da tromboflebite; **B** – Imagem ultrassonográfica em secção transversal da veia jugular contendo trombo grau IV (T) e sangue (S), 2 h após a indução da tromboflebite. Linhas pontilhadas indicam o diâmetro do trombo. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

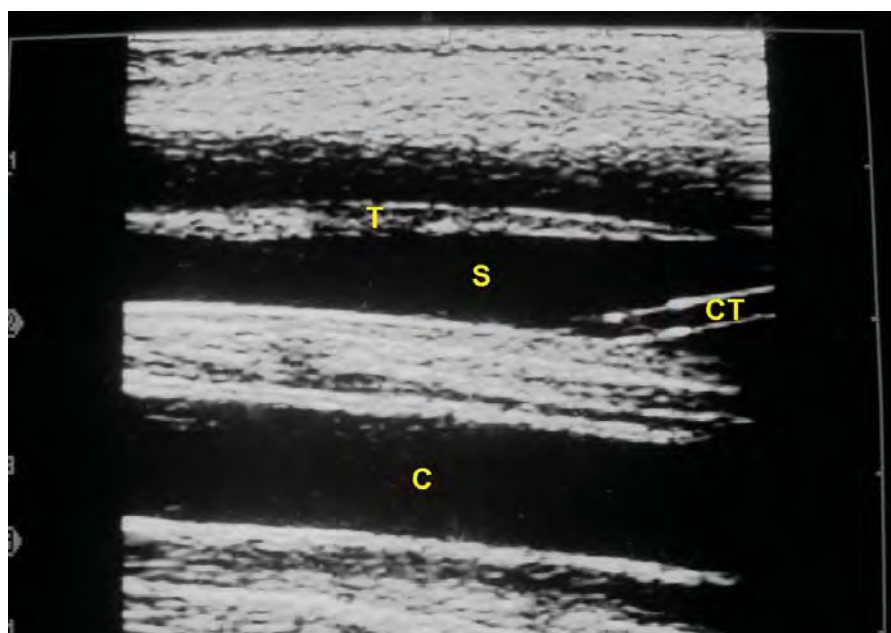


Figura 10. Imagem ultrassonográfica em secção longitudinal da artéria carótida externa (C) e da veia jugular contendo trombo grau II (T), sangue (S) e cateter (CT), 2 h após a indução da tromboflebite. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

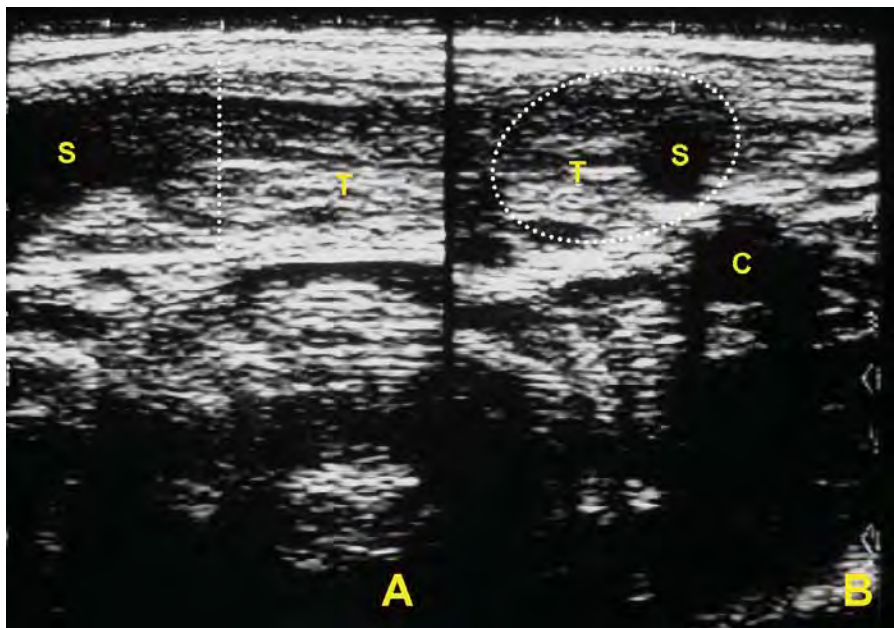


Figura 11. **A** – Imagem ultrassonográfica em secção longitudinal da veia jugular contendo trombo grau V (T) e sangue (S), 2 h após a indução da tromboflebite; **B** – Imagem ultrassonográfica em secção transversal da artéria carótida externa (C) e da veia jugular contendo trombo grau V (T) e sangue (S), 2 h após a indução da tromboflebite. Linhas pontilhadas indica o diâmetro da veia jugular. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

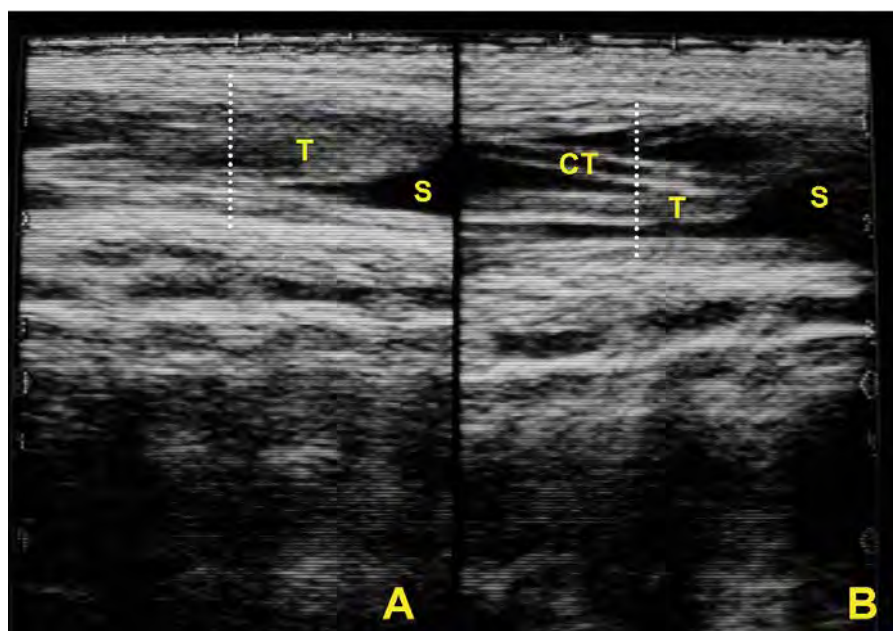


Figura 12. **A** – Imagem ultrassonográfica em secção longitudinal da veia jugular contendo trombo grau III (T) e sangue (S), 4 h após a indução da tromboflebite; **B** – Imagem ultrassonográfica em secção longitudinal da veia jugular contendo trombo grau III (T), sangue (S) e cateter (CT), 4 h após a indução da tromboflebite. Linhas pontilhadas indica o diâmetro da veia jugular. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

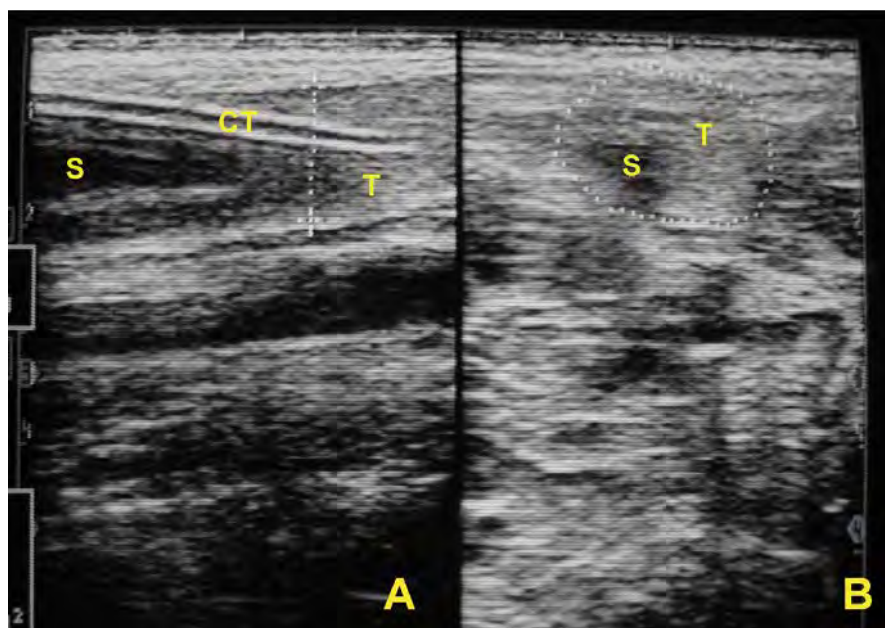


Figura 13. **A** – Imagem ultrassonográfica em secção longitudinal da veia jugular contendo trombo grau V (T), sangue (S) e cateter (CT), 6 h após a indução da tromboflebite; **B** – Imagem ultrassonográfica em secção transversal da veia jugular contendo trombo grau V (T) e sangue (S), 6 h após a indução da tromboflebite. Linhas pontilhadas indicam o diâmetro da veia jugular. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

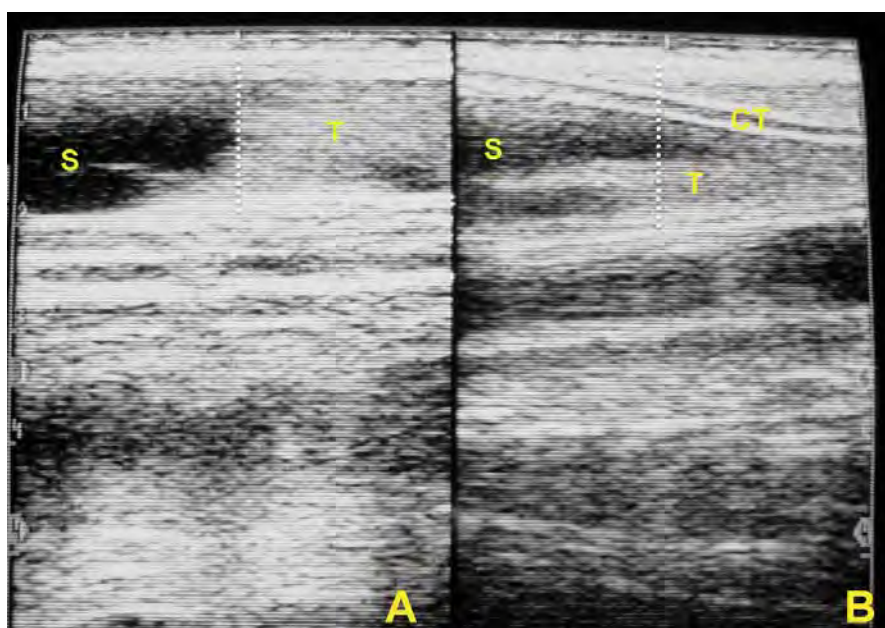


Figura 14. **A** – Imagem ultrassonográfica em secção longitudinal da veia jugular contendo trombo grau VI (T) e sangue (S), 12 h após a indução da tromboflebite; **B** – Imagem ultrassonográfica em secção longitudinal da veia jugular contendo trombo grau VI (T), sangue (S) e cateter (CT), 12 h após a indução da tromboflebite. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

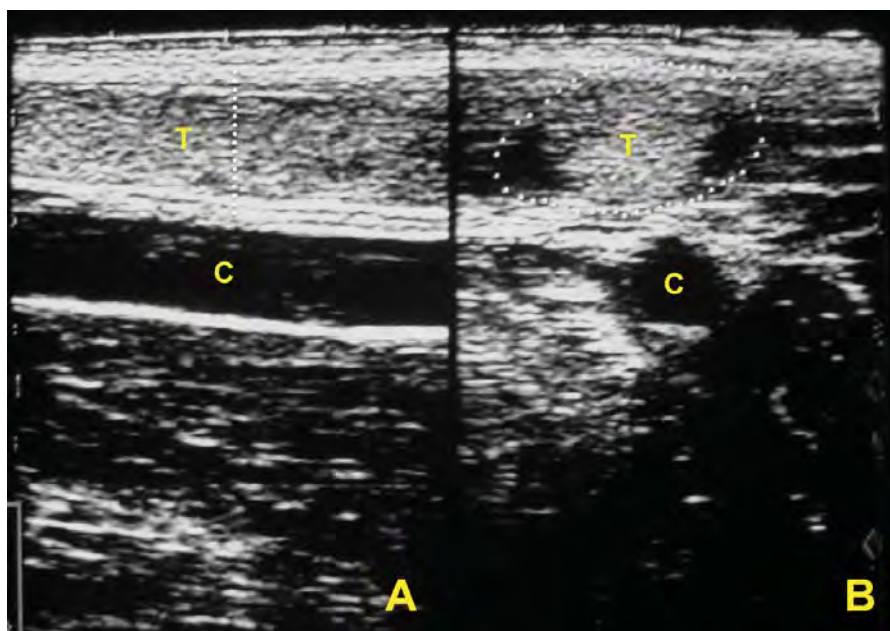


Figura 15. **A** – Imagem ultrassonográfica em secção longitudinal da artéria carótida externa (C) e da veia jugular contendo trombo grau VI (T), 24 h após a indução da tromboflebite; **B** – Imagem ultrassonográfica em secção transversal da artéria carótida externa (C) e da veia jugular contendo trombo grau VI (T), 24 h após a indução da tromboflebite. Linhas pontilhadas indicam o diâmetro da veia jugular. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

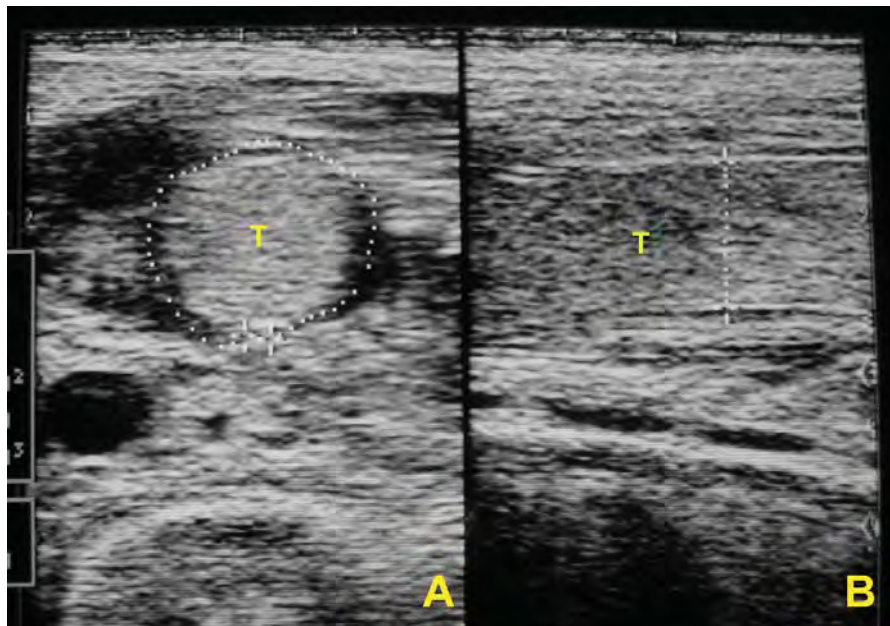


Figura 16. **A** – Imagem ultrassonográfica em secção transversal da veia jugular contendo trombo grau VI (T), 48 h após a indução da tromboflebite; **B** – Imagem ultrassonográfica em secção longitudinal da veia jugular contendo trombo grau VI (T), 48 h após a indução da tromboflebite. Linhas pontilhadas indicam o diâmetro da veia jugular. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

A avaliação ultrassonográfica permite a avaliação da veia jugular e dos tecidos circunvizinhos nos casos de tromboflebite jugular em equinos, porém, como o trombo tende a aumentar, a visibilização da estrutura é limitada cranialmente pelo ângulo da mandíbula e, caudalmente pela entrada do tórax.

Os modelos descritos para indução de trombose em diferentes espécies, costumam associar dois fatores descritos pela tríade de Virchow, sendo estes a lesão vascular a estase venosa (SPOKAS & TZE-CHEIN, 1992). HUSSNI et al. (2009) propuseram o único modelo existente para indução da tromboflebite jugular em equinos. Os autores propõe o acesso cirúrgico ao vaso, seguido de oclusão de um segmento venoso e lesão endotelial. Entretanto, tal técnica pode comprometer testes das possíveis estratégias de tratamento médico, principalmente na fase aguda da trombose, devido à inflamação local decorrente do procedimento cirúrgico.

O OE e a solução de glicose a 50 e 75% são amplamente utilizados na prática médica como agentes esclerosantes por promover destruição das células endoteliais (NISHIKAWA et al., 2006). HUSSNI et al. (2009) utilizaram a solução de glicose a 50% como agente de lesão endotelial para o modelo de indução de tromboflebite jugular proposto para equinos e oclusão do fluxo por 72 h. O modelo realizado no presente estudo associou a solução de glicose a 50% ao OE, visando amplificar a lesão endotelial, para que o tempo de oclusão do fluxo sanguíneo venoso pudesse ser menor e realizado por pressão digital sobre o sulco jugular, evitando-se a realização de procedimento cirúrgico. O modelo se mostrou efetivo em provocar tromboflebite em diferentes graus, provocando lesão semelhante a ocorrida na rotina hospitalar, contribuindo para que novas estratégias de tratamento médico possam ser testadas.

CAPÍTULO 4 – TERAPIA TROMBOLÍTICA REGIONAL COM ESTREPTOQUINASE NO TRATAMENTO DA TROMBOFLEBITE JUGULAR EM EQUINOS

RESUMO

A tromboflebite jugular se trata de complicação iatrogênica comumente observada em equinos. Em humanos, a terapia trombolítica regional com estreptoquinase tem sido usada com sucesso como tratamento de trombose. O objetivo deste ensaio é testar o nunca antes testado uso da terapia trombolítica regional com estreptoquinase (EQ) como tratamento da tromboflebite jugular induzida experimentalmente em equinos. Dezesseis equinos adultos, divididos em dois grupos tratados, GI – heparina e GII – estreptoquinase, foram submetidos a indução de tromboflebite jugular experimental. A terapia trombolítica regional com EQ foi realizada visando tratar a lesão em sua fase aguda de evolução. Identificado o trombo no interior do vaso, os animais foram submetidos à infusão em bolus de 750000 UI de EQ, diluídas em 100 ml de solução de cloreto de sódio 0.9%. As injeções foram realizadas de forma guiada por visualização ultrassonográfica, garantindo que a solução fosse injetada no interior do trombo. Foram realizadas 5 aplicações de 20 ml de solução em pontos equidistantes ao longo do trombo. Para o GII, imediatamente após a administração da EQ, iniciou-se terapia anticoagulante com heparina na dose de 100 UI/kg, via subcutânea a cada 12 h, por 3 dias. Os animais do GI foram submetidos ao mesmo protocolo com heparina. Avaliações ultrassonográficas foram realizadas diariamente nos 5 dias subsequentes ao início de cada tratamento. O GI não apresentou alterações significativas quanto a alteração do grau de lesão. Para o GII, a avaliação ultrassonográfica realizada imediatamente após o tratamento, mostrou áreas anecóicas e hipocóicas nos pontos de injeção, sugerindo que o trombo tenha se dissolvido nestes pontos. O mesmo aspecto foi observado até 12 h após o tratamento. Entretanto os trombos se reorganizaram, apresentando aspecto semelhante ao anterior ao tratamento 24 h após a realização deste.

Palavras-chave: equino; estreptoquinase; terapia trombolítica; tromboflebite jugular

4.1. INTRODUÇÃO

A tromboflebite jugular uni ou bilateral é frequentemente encontrada em equinos destacando-se por seu elevado grau de comprometimento circulatório (KNOTTENBELT & PASCOE, 1994; REEF, 1998; RIJKENHUIZEN & SWIETEN, 1998).

Até o momento, os tratamentos médicos propostos para a tromboflebite jugular em equinos não têm sido completamente eficazes, sendo comprovado que o restabelecimento do fluxo sanguíneo só ocorre por meio de procedimentos cirúrgicos complexos e custosos, como a substituição da veia acometida por implantes homólogos, autólogos ou sintéticos (CANNON et al., 1983; BEN-CHEHIDA et al., 1994; RIJKENHUIZEN & VAN SWIETEN, 1998; WIEMER et al., 2005; RUSSELL et al., 2010).

Para manter a hemostasia em condições normais, depósitos excessivos de fibrina são seguidos de rápida ativação do sistema fibrinolítico, cuja é manter a fluidez sanguínea com a dissolução de trombos fisiológicos e patológicos. Infelizmente este sistema é facilmente bloqueado em estados patológicos resultando em trombose, que nada mais é do que uma forma inadequada de hemostasia quando a ação da trombina é mais acentuada que a da plasmina (MORRIS, 2000).

Na prática da medicina, a terapia trombolítica com o uso de agentes fibrinolíticos (trombolíticos) tem revolucionado o tratamento de diversos transtornos circulatórios como tromboembolismo pulmonar, trombose venosa profunda e infarto do miocárdio (KUNAMNENI et al., 2007).

A terapia trombolítica consiste na dissolução farmacológica de coágulos sanguíneos pela infusão de ativadores do plasminogênio. (COLLEN et al., 1999; KUNAMNENI et al., 2007). A terapia fármacos fibrinolíticos tende a dissolver trombos farmacológicos e depósitos de fibrina em locais de injúria vascular, com o risco de hemorragia como o maior efeito colateral (MAJERUS et al., 1990).

Os agentes fibrinolíticos comumente usados na terapia trombolítica são a EQ, a uroquinase e o ativador de plasminogênio tissular. Estes agentes são conhecidos como ativadores de plasminogênio, uma vez que sua ação é a conversão do plasminogênio enzimaticamente inerte em uma protease ativa, a plasmina. A plasmina dissolve

coágulos de fibrina e solubiliza seus produtos de degradação, que são removidos por fagócitos (KUNAMNENI et al., 2007).

A EQ é uma proteína não enzimática produzida por cepas de *Streptococcus* sp. β -hemolíticos (COLLEN et al., 1999; KASHYAP & QUIÑONES-BALDRICH, 2000; KUNAMNENI et al., 2007). A propriedade de lisar coágulos da EQ foi pioneiramente descrita por Dr. William Smith Tillet em 1933 e, atribuindo o efeito do fármaco à ação enzimática direta sobre a fibrina (SKIRI & BARDIA, 2007).

A atividade fibrinolítica da EQ se inicia quando esta se combina com o plasminogênio formando um complexo ativador. Este complexo ativa então o mecanismo fibrinolítico convertendo plasminogênio não conjugado com EQ em plasmina. Na evolução do processo, os complexos plasminogênio-EQ são gradualmente convertidos em plasmina-EQ, que também estimula a ativação e conversão do plasminogênio livre. Como a conversão dos complexos EQ é lenta, a atividade inicial do fármaco é atribuída ao complexo plasminogênio-EQ e a atividade tardia ao complexo plasmina-EQ (KASHYAP & QUIÑONES-BALDRICH, 2000). Assim, diferente da uroquinase e do ativador de plasminogênio tissular, que são proteases, a EQ adquire sua propriedade ativadora de plasminogênio quando forma complexos com o plasminogênio e a plasmina circulantes (BANERJEE et al., 2004).

O complexo plasminogênio-EQ é refratário à ação dos inibidores de proteinase circulante (α_2 -antiplasmina), ativando indiscriminadamente o plasminogênio e quebrando fibrina, levando o organismo ao “estado lítico”, caracterizado pela depleção de α_2 -antiplasmina e fibrinogênio séricos, quando então há o maior risco de hemorragias (COLLEN et al., 1999).

A EQ é uma proteína estranha ao organismo e sua introdução na circulação pode provocar reações anafiláticas (BANERJEE et al., 2004). Anticorpos plasmáticos contra a estreptoquinase estão normalmente presentes como resultado de infecções prévias por *Streptococcus* sp. Assim, a terapia lítica só se torna efetiva quando a quantidade de fármaco administrado supera quantitativamente a ação dos anticorpos (MAJERUS et al., 1990).

A meia vida da EQ no plasma humano, uma vez depletados os anticorpos, é de 83 minutos (GRIERSON & BJORNSSON, 1987).

Sabe-se que trombos contém plasminogênio. Portanto, a ativação do plasminogênio intrínseco ao trombo em plasmina resulta em fibrinólise local e, este processo é protegido da ação dos inibidores circulantes. Assim, a trombólise sem ativação fibrinolítica sistêmica é possível (KASHYAP & QUIÑONES–BALDRICH, 2000).

Na tentativa de evitar as complicações hemorrágicas da terapia trombolítica, DOTTER et al. (1974) foram os primeiros autores a propor a infusão local de EQ em baixas doses no tratamento de oclusão arteriais. Devido a pequena dose administrada e à administração local, poucas complicações foram observadas.

Desenvolvia-se então a terapia trombolítica regional, que propõe a administração direta dos agentes fibrinolíticos mediante cateter implantado dentro do material trombótico (STEGNAR et al., 1994; KASHYAP & QUIÑONES–BALDRICH, 2000).

Em medicina, as indicações para a terapia trombolítica regional incluem trombose subclávia axial, trombose após angioplastia percutânea, oclusão trombótica de implantes, trombose de fístulas arterio-venosas e isquemia visceral secundária a trombose do vaso principal que irriga o órgão em questão (KASHYAP & QUIÑONES–BALDRICH, 2000).

Apesar da infusão local, fibrinólise sistêmica pode ser observada entre 12 e 24 horas pela degradação de fibrinogênio, plasminogênio e dos fatores de coagulação V e VIII. Se o cateter não estiver adequadamente posicionado dentro do trombo, o agente lítico pode circular, dispersando-se pela circulação colateral. Se isso acontecer, qualquer efeito fibrinolítico observado no trombo é atribuído à fibrinólise sistêmica (KASHYAP & QUIÑONES–BALDRICH, 2000).

A dose de EQ recomendada para a terapia trombolítica em humanos é de 100000 a 15000000 unidades internacionais por quilograma de peso (UI/kg) em bolus ou 5000 a 8000 UI/h durante 5 a 16 horas. A administração de qualquer agente fibrinolítico é sempre seguida de terapia anticoagulante com heparina por alguns dias para impedir a retrombose (KASHYAP & QUIÑONES–BALDRICH, 2000).

Ativação completa de plasminogênio em plasmina no plasma purificado de equino foi obtida com uma concentração de 1:10 (EQ:plasminogênio) depois de cinco minutos de incubação a 37°C. A caracterização parcial do plasminogênio equino não revelou diferenças com o plasminogênio humano em relação ao peso molecular, análise N-terminal e a composição dos aminoácidos da molécula. Entretanto, o plasminogênio equino não reagiu com anticorpos contra plasminogênio humano e suas isoenzimas demonstraram-se mais ácidas (MARCUM et al., 1982).

Até o presente momento, não há estudos comprovando a ação fibrinolítica da EQ na dissolução de trombos em equinos. Assim, a hipótese que sublinha o uso da terapia trombolítica regional para o tratamento da tromboflebite jugular, se deve ao fato das conhecidas semelhanças que envolvem os processos de coagulação e fibrinólise em humanos e equinos e, ainda, a possibilidade de reprodução do tratamento como proposto em humanos devido à localização superficial da veia jugular, sugerindo que o fármaco pode ser eficaz na dissolução de trombos observados na rotina clínico-hospitalar de equinos.

O objetivo deste ensaio é testar o uso da terapia trombolítica regional com estreptoquinase como tratamento da tromboflebite jugular induzida experimentalmente em equinos.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo experimental realizado no presente estudo está de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / Unesp – Câmpus de Jaboticabal (Protocolo nº 004302-06).

Foram utilizados dezesseis equinos adultos, sete machos e nove fêmeas, SRD, com idade média de 10 ± 2 anos e peso médio de 301 ± 7 kg. Considerados hígidos de acordo com avaliação clínica, todos os animais passaram por programas de

desverminação, vacinação e controle de ectoparasitas antes de iniciar o período experimental.

Os animais foram mantidos em baias individuais e receberam como alimentação: 1% do peso corpóreo em alimento volumoso, constituído de feno de Tifton (*Cynodon dactylon*); 1% do peso corpóreo em ração concentrada; sal mineral e água *ad libitum*.

De acordo com delineamento experimental inteiramente casualizado, os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos:

- GI (controle) – Grupo formado por dez indivíduos submetidos à indução de tromboflebite da veia jugular esquerda e tratados com heparina;
- GII (EQ) – Grupo formado por seis indivíduos submetidos à indução de tromboflebite da veia jugular esquerda e tratados com estreptoquinase²⁵ e heparina.

A tromboflebite jugular foi induzida por meio lesão endotelial promovida por injeção de 12 mL de solução de oleato de etanolamina a 5% associados a 20 mL de solução de glicose a 50%. No momento da injeção, realizou-se pressão digital sobre a veia, cranial e caudalmente ao ponto de punção de forma a ocluir o fluxo sanguíneo, manobra esta mantida por 15 minutos e, que associada à lesão endotelial induziu a lesão.

Os animais foram monitorados por avaliações clínicas e ultrassonográficas periódicas. As avaliações clínicas foram realizadas simultaneamente aos exames ultrassonográficos, observando-se os seguintes parâmetros: atitude e comportamento; FC; frequência respiratória; temperatura retal; pulso; tempo de preenchimento capilar na mucosa oral; reflexo pupilar; motilidade intestinal e temperatura das extremidades (cascos e orelhas).

As avaliações ultrassonográficas foram realizadas utilizando-se transdutor linear de 7,5 Mhz, antes e diariamente nos 5 dias subsequentes ao início de cada tratamento (GI e GII). Os seguintes momentos foram avaliados: imediatamente antes, 24, 48 e 72

²⁵ Streptase® – ZLB Behring Ltda. Brazil, São Paulo – SP

horas durante a terapia com heparina e, 24 e 48 horas após o término desta. Para o GII, ainda foram realizadas avaliações durante a administração guiada da EQ e, 2, 4, 6, 12 e 24 horas após sua administração. Criou-se uma escala de lesão vascular classificando os trombos de acordo com a avaliação ultrassonográfica vide tabela 2, capítulo 3.

A ultrassonografia foi utilizada nas avaliações da lesão e para guiar a injeção de EQ no interior do trombo. Os procedimentos foram realizadas com o animal em posição quadrupedal, contido por tronco e cabresto mantido por pessoa experiente.

O tratamento de cada animal iniciou-se entre 48 e 72 h após a indução, mesmo nos que não apresentavam trombo 100% oclusivo. A terapia trombolítica regional com EQ foi realizada visando tratar a lesão em sua fase aguda de evolução e, portanto o tratamento do GI (controle) se iniciou no mesmo momento.

O GI recebeu terapia anticoagulante com heparina na dose de 100 UI/kg, via subcutânea a cada 12 h, por 3 dias.

Previamente à terapia trombolítica, os animais do GII (EQ), receberam 550 UI via subcutânea na região cervical, como teste de sensibilidade ao fármaco. Não ocorrendo reações anafiláticas em 20 minutos, a administração de estreptoquinase foi iniciada. Guiado pela imagem ultrassonográfica, foi determinado um segmento de 10 cm de trombo 100% oclusivo no terço médio da veia jugular, onde 5 agulhas hipodérmicas 30mm x 8GA²⁶ foram posicionadas em pontos equidistantes. Foram administradas 750000 UI de estreptoquinase diluídas em 100 mL de solução de cloreto de sódio 0,9% (concentração 7500 UI/mL), sendo 20 mL por ponto de injeção. As injeções foram acompanhadas por ultrassonografia, garantindo que a solução fosse injetada no interior do trombo. Para o GII, imediatamente após a administração da EQ, iniciou-se terapia anticoagulante com heparina na dose de 100 UI/kg, via subcutânea a cada 12 h por 3 dias. No sentido de atribuir a ação fibrinolítica à estreptoquinase, o GI também recebeu terapia anticoagulante com heparina na mesma posologia usada no GII.

Os animais foram submetidos a eutanásia 15 dias após a indução da tromboflebite mediante tranquilização com acepromazina 1% na dose de 0,1 mg/kg por

²⁶ BD PrecisionGlide™ – Agulha Hipodérmica – Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., Curitiba – PR

via intravenosa (IV), indução anestésica com de tiopental sódico na dose de 5 mg/kg IV seguida de injeção por via intratecal de cloridrato de lidocaína 2%, sem vasoconstritor, na dose de 2,5 mg/kg.

Os valores atribuídos aos graus de lesão foram transformados em raiz quadrada, obtendo-se assim valores numéricos para os escores de lesão. Posteriormente, tais valores foram submetidos à análise multivariada de medidas repetidas (*One way ANOVA*) e, constatada a significância, aplicou-se o teste *Tukey* ($p < 0,05$) para comparação das médias, utilizando-se o *software* SAS 9.0. Os dados apresentam-se como média $\pm$ erro padrão da média (EPM).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. AVALIAÇÃO CLÍNICA

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nos seguintes parâmetros clínicos mensurados: atitude e comportamento; FC; frequência respiratória; temperatura retal; pulso; tempo de preenchimento capilar na mucosa oral; reflexo pupilar; motilidade intestinal e temperatura das extremidades (cascos e orelhas).

4.3.2. AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA

A avaliação ultrassonográfica foi realizada conforme proposto, não sendo observadas diferenças ($p > 0,05$) entre os momentos de avaliação de cada grupo (GI e GII), bem como não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos, conforme descrito na tabela 4.

Tabela 4. Valores médios $\pm$ EPM dos escores de lesão vascular ao longo do tempo em horas (h) para os grupos GI e GII. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

		TEMPO (h)						
		0	2	4	6	12	24	48
ESCORES GI		2.12	2.13	2.09	2.12	2.18	2.22	2.12
		± 0.10	± 0.11	± 0.12	± 0.12	± 0.12	± 0.12	± 0.10
ESCORES GII		2.21	2.26	2.26	2.21	2.26	2.37	2.21
		± 0.13	± 0.10	± 0.10	± 0.13	± 0.10	± 0.06	± 0.13

Segundo a avaliação ultrassonográfica do GI (controle), dois animais apresentaram aumento e um apresentou diminuição no grau de lesão em relação à avaliação inicial. A partir de então os trombos permaneceram estáveis, sendo que um animal aumentou o grau de lesão 24 h após o término da terapia com heparina, tendo diminuído em um grau na avaliação subsequente. Dois animais aumentaram o grau de lesão na última avaliação, 48 h após o término da terapia com heparina. Porém, após a transformação dos dados, não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os momentos de avaliação. Indica-se a terapia anticoagulante com heparina para impedir a retrombose nos casos tratados por agentes fibrinolíticos (KASHYAP & QUIÑONES-BALDRICH, 2000). Não observou-se alterações significativas nos graus de lesão durante e após a administração de heparina no GI, demonstrando que o fármaco na dose utilizada neste estudo, apesar de sua ação anti-coagulante, não impede que o trombo se desenvolva.

O exame sonográfico do GII (EQ) mostrou as seguintes observações: um animal aumentou o grau de lesão 6 h após o tratamento; um animal diminuiu o grau, 24 h após o tratamento; um animal aumentou o grau, 48 h após o tratamento; três animais aumentaram na última avaliação. O desenvolvimento da tromboflebite jugular frente à administração da EQ se demonstrou variável entre os animais, porém, como para o GI, após a transformação dos dados, não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os momentos de avaliação. Em contrapartida, a ultrassonografia mostrou que todos os

animais do GII apresentaram diminuição de ecogenicidade do trombo e presença de cavitações imediatamente após a administração da EQ, evidenciando áreas de hipoeecóicas a anecóicas nos pontos de injeção, sugerindo que o trombo havia se dissolvido nestas áreas. Ainda, um dos equinos apresentou recanalização parcial do segmento venoso, antes 100% oclusivo, restabelecendo o fluxo sanguíneo, 2 h após o tratamento. Para todos os animais do grupo, a imagem observada manteve-se inalterada até 12 h após o tratamento. Entretanto os trombos se reorganizaram 24 h após a administração da EQ, apresentando aspecto semelhante ao T0. Atribui-se a reorganização do trombo à grande extensão da lesão induzida, ocorrendo nova agregação de fibrina e plaquetas. Apesar do grau de lesão não ter diminuído significativamente ($p>0,05$), a diminuição de ecogenicidade, a presença de cavitações e a recanalização do trombo observadas, demonstram a ação fibrinolítica da EQ, contrariamente ao relatado por DORNBUSCH et al. (2007), que reportou a ineficácia da EQ nos equinos. As figuras 17 a 19 ilustram as imagens ultrassonográficas obtidas em diferentes momentos após o tratamento com EQ.

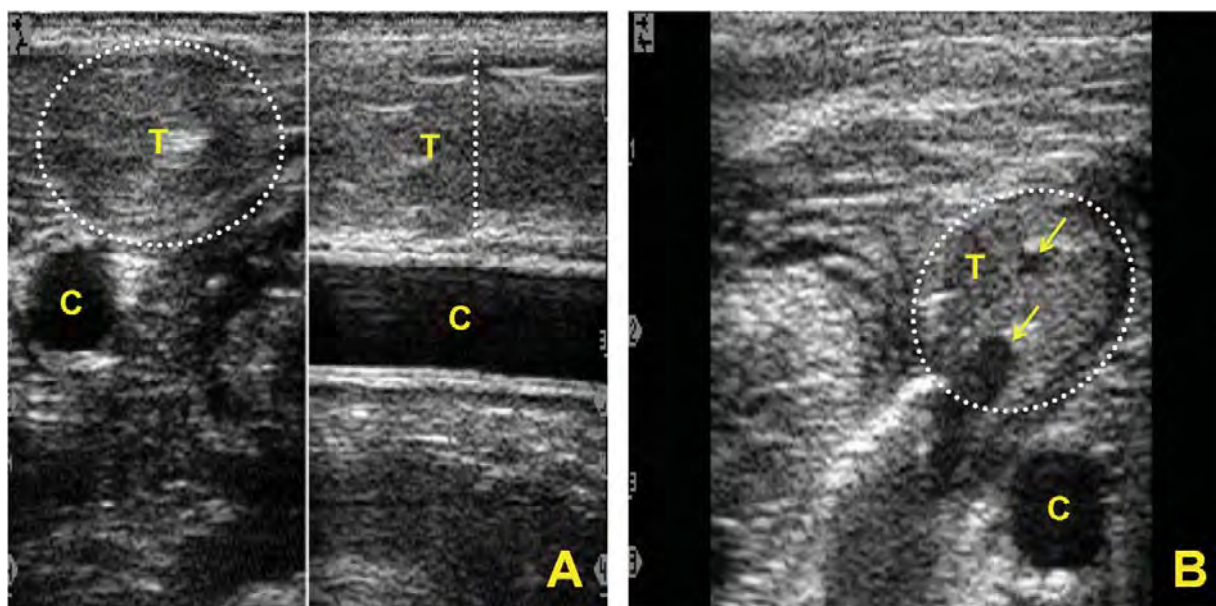


Figura 17. GII / Animal 3. **A** – Imagem ultrassonográfica em seções transversal e longitudinal da artéria carótida externa (C) e da veia jugular contendo trombo grau VI (T), imediatamente antes da administração da EQ; **B** – Imagem ultrassonográfica em seção transversal da artéria carótida externa (C) e da veia jugular contendo trombo grau VI (T), 2 h após a administração da EQ. Setas indicam pontos de cavitação. Linhas pontilhadas indicam o diâmetro da veia jugular. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

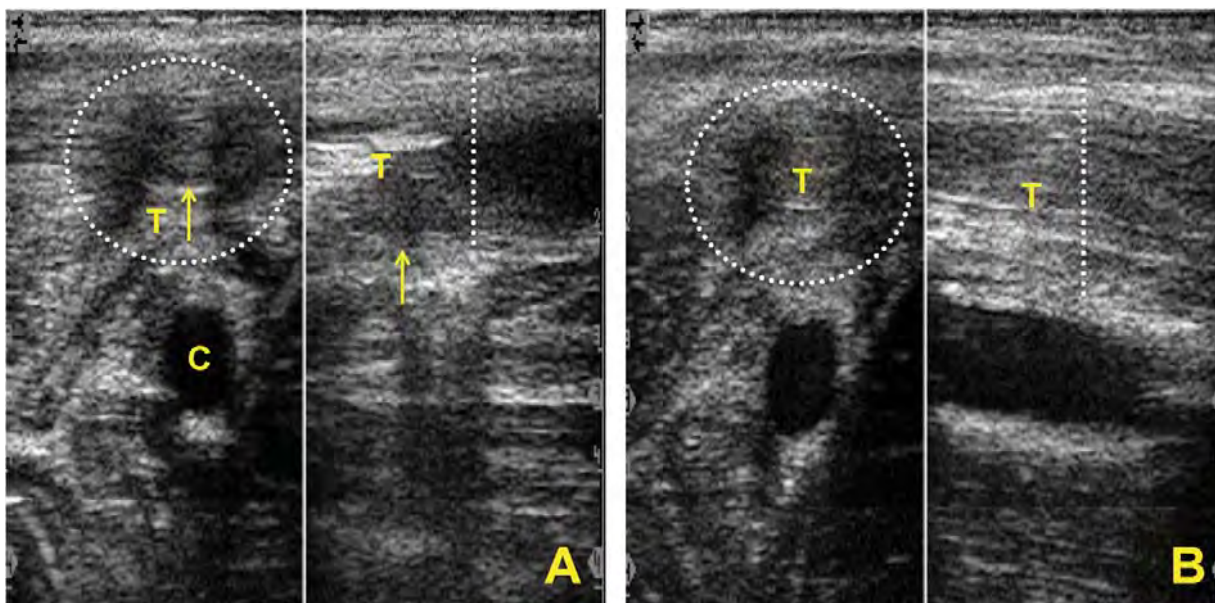


Figura 18. GII / Animal 3. **A** – Imagem ultrassonográfica em secções transversal e longitudinal da artéria carótida externa (C) e da veia jugular contendo trombo grau VI (T), 6 h após a administração da EQ. Setas indicam cavitações; **B** – Imagem ultrassonográfica em secções transversal e longitudinal da artéria carótida externa (C) e da veia jugular contendo trombo grau VI (T), 24 h a administração da EQ. Linhas pontilhadas indicam o diâmetro da veia jugular. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

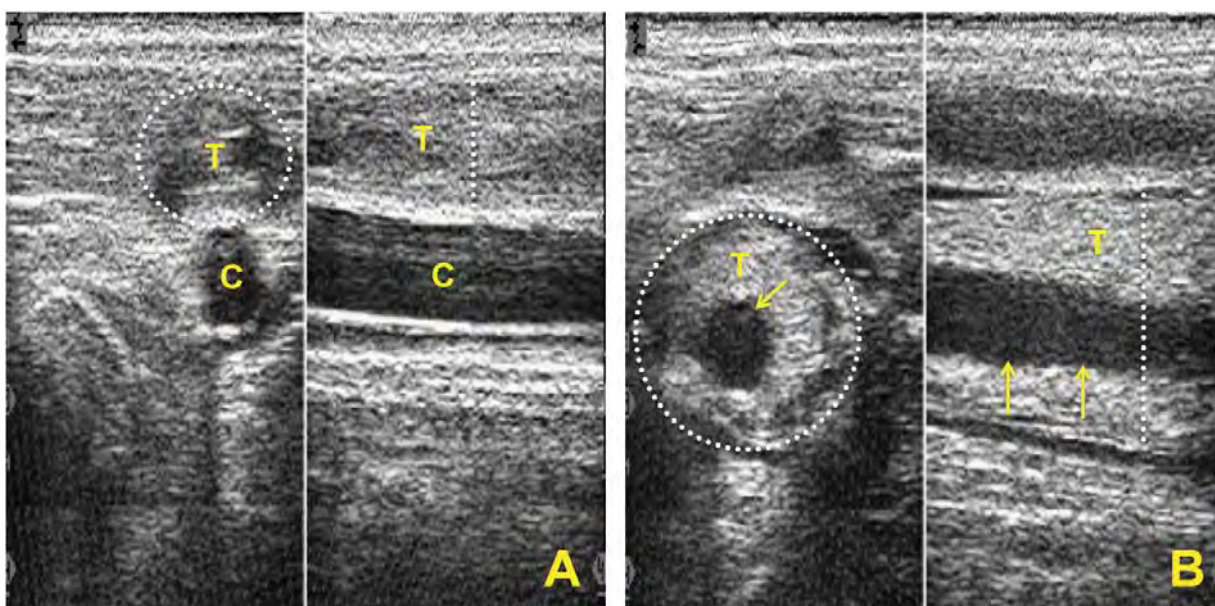


Figura 19. GII / Animal 4. **A** – Imagem ultrassonográfica em secções transversal e longitudinal da artéria carótida externa (C) e da veia jugular contendo trombo grau VI (T), imediatamente antes da administração da EQ; **B** – Imagem ultrassonográfica em secções transversal e longitudinal da artéria carótida externa (C) e da veia jugular contendo trombo grau V (T), 2 h após a administração da EQ. Setas indicam recanalização. Linhas pontilhadas indicam o diâmetro da veia jugular. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

A avaliação ultrassonográfica revelou que o protocolo de tratamento para a tromboflebite jugular induzida em equinos, utilizando a terapia trombolítica regional com EQ, na dose de 750000 UI administradas em bolus ativou a fibrinólise local. Entretanto novos estudos examinando diferentes doses e administrações sucessivas se fazem necessários para testar se a EQ é eficaz em dissolver completamente trombos localizados na veia jugular de equinos, promovendo a recanalização permanente, para que se possa estabelecer protocolos terapêuticos.

CAPÍTULO 5 – AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA DE EQUINOS SUBMETIDOS À OCLUSÃO JUGULAR POR TROMBOSE DURANTE O EXERCÍCIO PROGRESSIVO EM ESTEIRA ROLANTE

RESUMO

Grande parte do conhecimento gerado em relação às respostas fisiológicas do equino ao exercício, é resultado de estudos realizados em esteira rolante. A tromboflebite jugular é uma enfermidade comumente encontrada em equinos causando grave comprometimento circulatório cervical e cefálico. Até o presente momento, não há relatos que avaliem quantitativamente as alterações hemodinâmicas de equinos apresentando obstrução venosa jugular por trombo durante o exercício. Dez equinos adultos foram submetidos à indução de trombose na veia jugular e realizaram dois testes ergométricos a saber: teste I (Controle); teste II (Trombose unilateral) – animais apresentando trombose induzida na veia jugular esquerda. A avaliação hemodinâmica conduzida durante os testes em esteira incluiu medidas de FC, PAS, PAD, PAM, PAP, PVR da veia jugular, cranialmente ao trombo. Os valores de FC (bpm) obtidos de M0 a M11, não diferiram entre os testes. Os valores de PAS (mmHg) apresentaram diferenças significativas entre as médias de T0 a T11, quando avaliado cada teste ergométrico (I e II). Observou-se diferença entre os testes nos valores médios obtidos no M6. Para os valores de PAD (mmHg), observou-se diferença entre os testes nos valores médios obtidos em M6 e M8. Para os valores de PAM (mmHg) observou-se diferença entre os testes nos valores médios obtidos em M3, M6, M7 e M8. As médias de PAP (mmHg) diferiram nos valores médios obtidos em M3 a M8. Os valores de PVR (mmHg) apresentaram diferenças entre as médias de T0 a T11, quando avaliado cada teste ergométrico (I e II). Observou-se diferença entre os testes nos valores médios obtidos em M0 a M9. O presente estudo demonstrou alterações hemodinâmicas consideráveis e apresentou informações que podem servir de base para novos ensaios hemodinâmicos em equinos apresentando tromboflebite jugular.

Palavras-chave: equino; exercício; hemodinâmica; tromboflebite jugular

5.1. INTRODUÇÃO

Grande parte do conhecimento gerado em relação às respostas fisiológicas do equino ao exercício, é resultado de estudos realizados em esteira rolante analisando alterações cardiovasculares, respiratórias, metabólicas, termorregulatórias, hematológicas e hormonais durante diferentes distâncias e intensidades de esforço (ROSE & HODGSON, 1994).

Estudos hemodinâmicos em equinos, enfatizando medidas de frequência cardíaca e pressão arterial, tem sido realizados para avaliar a performance e identificar disfunções cardíacas, porém apenas alguns autores descrevem medidas de pressão arterial durante o exercício (THOMAS & FREGIN, 1981; PARKS & MANOHAR, 1983; EVANS & ROSE, 1988).

Durante o exercício, as respostas fisiológicas e bioquímicas ocorrem de forma muito rápida. Nos primeiros milésimos de segundo de atividade, diferentes sistemas orgânicos são ativados. Há aumento da taxa de glicólise, liberação de adrenalina pela medula adrenal e são disparados estímulos pelos nervos simpáticos, elevando a FC e o volume sistólico. O consequente aumento do Q intensifica o aporte de oxigênio e nutrientes às fibras musculares (LACERDA NETO, 2004).

O sistema cardiovascular apresenta a capacidade de se adaptar às necessidades de distribuição de oxigênio, que ocorrem durante diferentes circunstâncias fisiológicas (CORLEY et al., 2003). Para que a perfusão dos músculos ativos durante o exercício seja adequada, o sistema cardiovascular mantém a pressão arterial dentro de estreitos limites. São ativados mecanismos neurais (estimulação simpática) e endócrinos (liberação de catecolaminas; ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona e estimulação da liberação de vasopressina) para que o tono vascular seja mantido mediante preservação do volume sanguíneo (GUYTON & HALL, 2002).

No equino atleta, os mecanismos de adaptação do sistema cardiovascular são muito bem desenvolvidos, de modo que o Q pode aumentar em até oito vezes durante o exercício intenso, quando comparado com os valores de repouso (EVANS, 1985).

No repouso o coração está primariamente sob controle parassimpático. Com o início do exercício ocorre aumento da estimulação simpática e há liberação de catecolaminas, que modificam os estados cronotrópico e inotrópico do coração (DURANDO et al., 2002; BORELL et al., 2007).

A FC aumenta rapidamente de, em média 30 para 110 bpm, por inibição da atividade parassimpática. Quando o animal atinge velocidades mais altas, o aumento progressivo da FC é mais lento e determinado pelo SNA simpático e pela presença das catecolaminas na circulação (POOLE & ERICKSON, 2004). Com o término do exercício, a estimulação simpática e a liberação de catecolaminas diminuem e o SNA parassimpático predomina novamente modulando a FC (DURANDO et al., 2002).

A FC de equinos atletas em repouso é de 20 a 40 bpm. Durante o exercício de alta intensidade, a FC de cavalos de corrida da raça Puro Sangue Inglês pode atingir até 250 bpm (DERMAN & NOAKES, 1994; ERICKSON, 1996). Elevações anormais da FC em repouso e durante o exercício são excelentes marcadores de fadiga, indicando a necessidade de repouso (DERMAN & NOAKES, 1994).

O valor normal da pressão arterial sistólica (PAS) para um equino adulto em repouso é de 130 mmHg e, da pressão arterial diastólica (PAD) de 95 mmHg (DETWEILER, 1996). HÖRNICKE et al., (1977) observaram que a PAS aumenta de 115 ± 15 mmHg em repouso para 205 ± 23 mmHg, a PAD aumenta de 83 ± 10 mmHg para 116 ± 12 mmHg e a PAM aumenta de 97 ± 12 mmHg para 160 ± 20 mmHg, a velocidades variando de 7,6 a 10,6 m/s.

Durante o exercício submáximo, a pressão sanguínea arterial sistêmica é mantida relativamente constante por barorreceptores arteriais (DETWEILER, 1996; ERICKSON, 1996). Entretanto, durante o exercício intenso, ocorrem aumentos significativos na PAM (ERICKSON, 1996; HIRAGA et al., 1999).

A atividade sistólica é considerada o mais importante indicador da função cardíaca por indicar o estado inotrópico do coração. A diástole representa o relaxamento ventricular e pode ser afetada por algumas situações que podem ocorrer durante o exercício como hipóxia, acidose e isquemia (DURANDO et al., 2002).

O sangue venoso normalmente flui para o átrio direito, assim a pressão no átrio direito é determinada pressão venosa central (PVC). A PVC é regulada pela capacidade do coração em bombear o sangue para fora do átrio direito e pela tendência do sangue de retornar dos vasos periféricos para o átrio direito (GUYTON & HALL, 2002).

Segundo LANGSETMO et al. (1999), as pressões nos átrios esquerdo e direito apresentam-se marcadamente elevadas durante o exercício máximo, sendo 70 mmHg e 45 mmHg respectivamente. A elevação da pressão no átrio direito aumenta diretamente a pressão na artéria pulmonar (PAP) e nos capilares pulmonares.

A circulação pulmonar recebe todo o fluxo proveniente do ventrículo direito, perfunde os capilares alveolares e participa da troca gasosa. A circulação brônquica, um ramo da circulação sistêmica, recebe apenas 1% do fluxo sanguíneo do ventrículo esquerdo nutrindo as vias aéreas e outras estruturas pulmonares (ROBINSON, 1991; MANOHAR et al., 1993). Equinos em repouso apresentam valores de PAP sistólica, diastólica e média respectivamente de 42, 18 e 26 mmHg, ao nível do mar (MILNE et al., 1975).

Durante o exercício, a cateterização arterial pulmonar permite avaliação funcional contínua, que não pode ser obtida pelo método mais comumente usado em avaliações cardíacas, a ecografia (DURANDO, 2003). Segundo LANGSETMO et al. (1999), as pressões nos átrios esquerdo e direito apresentam-se marcadamente elevadas durante o exercício máximo, sendo 70 mmHg e 45 mmHg respectivamente.

O primeiro relato de que a PAP aumenta em equinos durante o exercício, em relação aos valores de repouso, foi de PARKS & MANOHAR (1983). Tal incremento, que ocorre visando otimizar o influxo de sangue para o pulmão para suprir a elevada demanda de oxigênio durante o esforço, é substancialmente maior em equinos do que

em outras espécies (ERICKSON et al., 1990). MAGID et al. (2000) demonstraram valores de PAP média de equinos em posição quadrupedal e repouso ($27,6 \pm 1,1$) e, durante o exercício intenso ($107,7 \pm 4,5$).

Estudos avaliando a pressão da artéria pulmonar durante o exercício foram realizados buscando informações sobre a etiologia e prevenção da hemorragia pulmonar induzida pelo exercício, pois a hipertensão capilar pulmonar parece predispor à ocorrência da enfermidade (ERICKSON et al., 1990; MANOHAR et al., 1993; MILLS et al. 1996; FUNKQUIST et al., 2000; MAGID et al., 2000). A avaliação de pressão arterial pulmonar durante o exercício ainda tem revelado sinais de alterações hemodinâmicas em equinos apresentando insuficiência mitral (GEHLEN et al., 2004) e fibrilação atrial (GEHLEN et al., 2006).

A tromboflebite jugular é uma enfermidade comumente encontrada em equinos causando grave comprometimento circulatório cervical e cefálico. Até o presente momento, não há relatos que avaliem quantitativamente as alterações hemodinâmicas de equinos apresentando obstrução venosa jugular por trombo durante o exercício.

Hipotetizando que a presença de trombo na veia jugular pode diminuir o retorno venoso e alterar a dinâmica cardiovascular, o presente estudo foi realizado visando avaliar algumas das alterações cardiovasculares que podem ocorrer durante o exercício progressivo realizado por equinos apresentando oclusão por trombose unilateral induzida.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo experimental realizado no presente estudo está de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem Estar Animal (CEBEA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias / Unesp – Câmpus de Jaboticabal (Protocolo nº 004302-06).

Foram utilizados dez equinos adultos, cinco machos e cinco fêmeas, SRD, com idade média de 9 ± 2 anos e peso médio de 308 ± 17 kg. Considerados hígidos de acordo com avaliação clínica, todos os animais passaram por programas de desverminação, vacinação e controle de ectoparasitas antes de iniciar o período experimental.

Os animais foram mantidos em baias individuais e receberam como alimentação: 1% do peso corpóreo em alimento volumoso, constituído de feno de Tifton (*Cynodon dactylon*); 1% do peso corpóreo em ração concentrada; sal mineral e água *ad libitum*.

Os dez animais selecionados foram submetidos a dois testes ergométricos em esteira rolante para avaliação hemodinâmica, a saber:

- I (Controle) – teste ergométrico de esforço progressivo;
- II (Trombose unilateral) – teste ergométrico de esforço progressivo dos animais apresentando tromboflebite jugular esquerda.

Oito dias antes do início das avaliações, os animais foram adaptados ao exercício em esteira, segundo protocolo já descrito no capítulo 2.

A avaliação hemodinâmica conduzida durante os testes em esteira incluiu medidas de FC, PAS, PAD, PAM, PAP e pressão venosa regional (PVR) da jugular, mensurada cranial ao trombo. A FC foi registrada telemetricamente por frequencímetro²⁷. Para as medidas de pressão arterial sistólica, diastólica e média, realizou-se a cateterização da artéria facial direita, segundo protocolo descrito no capítulo 2, procedimento este realizado 24 h antes do teste ergométrico controle, evitando-se assim interferência dos agentes anestésicos utilizados para o procedimento cirúrgico. Para avaliar a PVR, implantou-se cateter 14 GA na veia jugular. No teste I, quando ainda não havia oclusão por trombo, o cateter foi implantado no terço cranial do vaso, em posição contrária ao fluxo sanguíneo.

Para cateterização da artéria pulmonar, implantou-se na veia jugular direita um introdutor percutâneo venoso²⁸ de 8,5 French (Fr). O procedimento de implantação foi realizado com o animal em posição quadrupedal, não sedado, contido por tronco e

²⁷ S810i™ Heart Rate Monitor – Polar Electro Oy – Kempele – Finland

²⁸ Percutaneous Sheath Introducer Set – REF SI-09875-E – Arrow International, Inc., USA

cabresto mantido por pessoa experiente. Após tricotomia e anti-sepsia rigorosas da região cervical esquerda, especialmente sobre sulco da veia jugular, realizou-se anestesia local infiltrativa, com 2 ml de cloridrato de lidocaína 2%, sem vasoconstritor, no ponto de punção, localizado no terço caudal da extensão aparente do vaso.

Verificada a eficácia do procedimento anestésico, iniciou-se implantação mediante punção com agulha de 18 GA²⁹ (Figura 20A), através da qual se introduziu um fio guia³⁰ de aço de 45 cm (Figura 20B). Retirada a agulha, realizou-se incisão de pele de 1 cm, paralela ao sentido da veia jugular, sobre ponto de entrada do fio guia, seguida de divulsão romba do tecido subcutâneo e do músculo braquiocefálico até identificação da parede da veia jugular. A identificação foi facilitada dilatando-se o vaso por meio de oclusão do fluxo por pressão digital, e posição caudal à punção. O expansor tecidual³¹ foi introduzido na veia jugular, passado pelo fio guia, de modo a ampliar o orifício na parede do vaso (Figura 20C e 20D), manobra esta realizada mantendo-se a oclusão distal. O expansor foi então retirado e acoplado por dentro do introdutor percutâneo³² previamente preenchido com solução estéril de cloreto de sódio a 0,9% heparinizada e vedado com um adaptador PRN, para que este pudesse ser implantado na veia jugular (Figura 20E). Finalmente o introdutor foi implantado no lúmen vascular, o expansor removido, seguido de completa exteriorização do fio guia, restando somente o introdutor no lúmen da veia jugular. Realizou-se dermorráfia com um ponto em U-horizontal, utilizando-se fio de nylon monofilamento nº 1, sendo que este mesmo ponto foi utilizado para fixar o introdutor à pele. A fixação da extensão do cateter foi realizada com um ponto simples na pele, utilizando-se fio de nylon monofilamento nº 1 (Figura 20F).

²⁹ Introducer Needle: 18 GA x 2-1/2'' (6.35 cm) XTW – Arrow International, Inc., USA

³⁰ Spring-Wire Guide, Marked: .035'' (.89 mm) dia. x 17-13/16'' (45 cm) – Arrow International, Inc., USA

³¹ Obturator: 8 Fr. – Arrow International, Inc., USA

³² Sheath: 8.5 Fr. X4'' (10 cm) Arrow-Flex® – Arrow International, Inc., USA

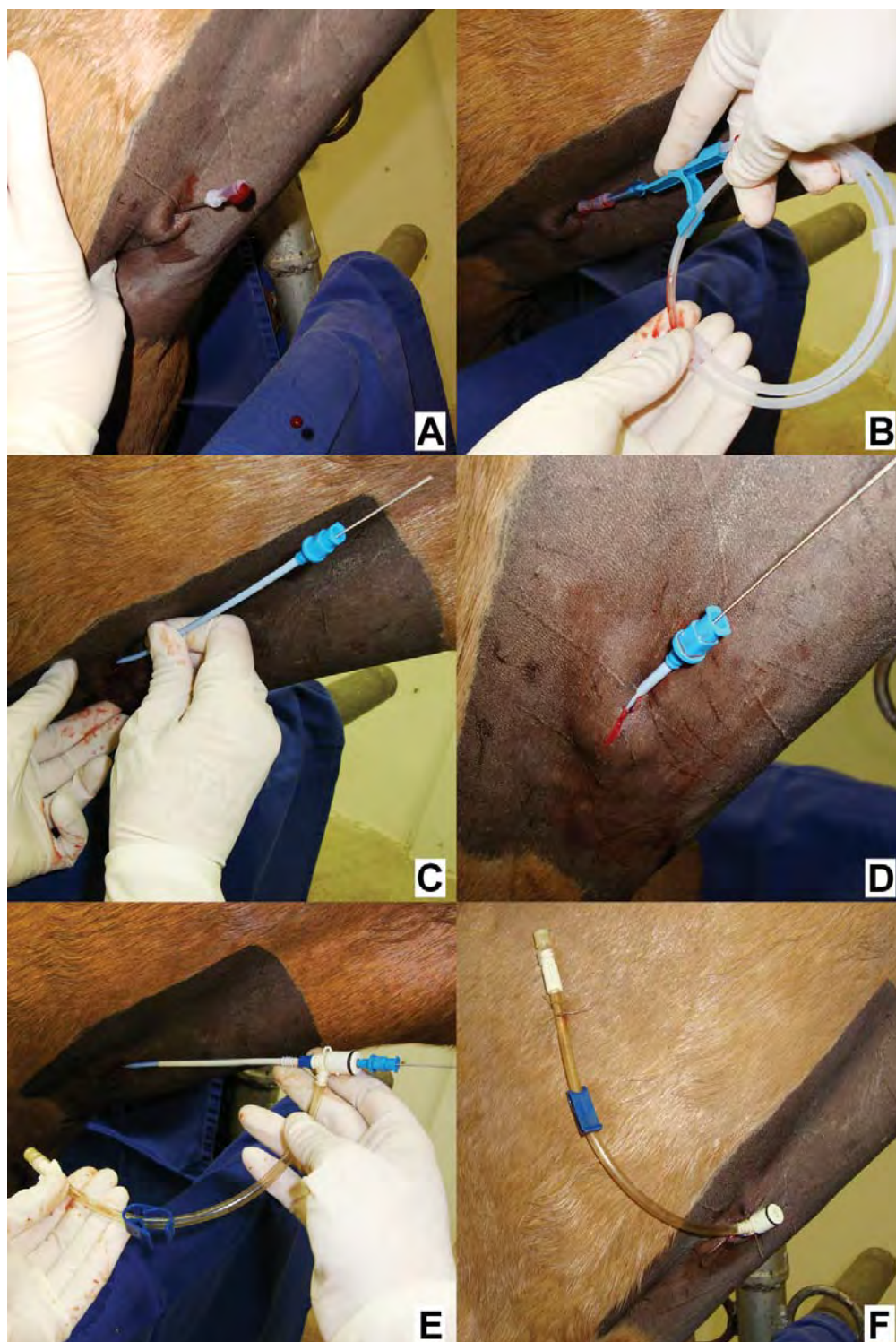


Figura 20. A- Punção na veia jugular sobre botão anestésico; B- Introdução do fio guia; C- Introdução do expansor tecidual; D- Expansor tecidual; E- Implantação do introdutor; F- Aspecto ao final do procedimento. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

Os animais foram conduzidos até a esteira e, imediatamente antes da realização do teste ergométrico, já sobre a manta de rolagem, a artéria pulmonar foi acessada utilizando-se cateter de *Swan Ganz*³³.

A via proximal do cateter de *Swan Ganz* foi preenchida com solução estéril de cloreto de sódio a 0,9% heparinizada e vedada pela seringa de 3 ml utilizada para injetar a solução. A via distal do cateter de *Swan Ganz* foi conectada a transdutor de pressão por meio de tubo extensor de 2,4 m de comprimento preenchido com solução estéril de cloreto de sódio a 0,9% heparinizada. O transdutor foi fixado sobre uma barra estável da esteira na altura da articulação escapulo-umeral de cada cavalo, considerando-se a relação da articulação com a altura do átrio direito e, calibrado de acordo com a pressão atmosférica. A via elétrica do cateter foi conectada ao módulo de Q do monitor multiparamétrico³⁴ que registrou dados de PAP.

Conectado ao monitor, iniciou-se a introdução do cateter de *Swan Ganz*, sob nova preparação estéril. Após percorrer o trajeto da veia jugular, a localização exata do cateter foi verificada pelas ondas e valores de pressão característicos de cada câmara cardíaca e da artéria pulmonar. Ao se verificar a onda característica do átrio direito (Figura 21), que representa a pressão venosa central, o balonete presente na extremidade do cateter foi insuflado com 1,5 ml de ar de modo a auxiliar a progressão do mesmo orientado pelo fluxo sanguíneo. Seguiu-se a implantação, identificando-se a onda do ventrículo direito (Figura 22) e, finalmente da artéria pulmonar (Figura 23), quando o balonete foi desinsuflado.



Figura 21. Aspecto da onda pressórica do átrio direito obtida por cateter de *Swan Ganz* – Escala em mmHg. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

³³ Thermodilution Catheter with AMC THROMBOSHIELD – REF: 131HF7 – Edwards Lifesciences LLC – USA

³⁴ Central de monitorização fisiológica DX-2010 – Dixtal Biomédica Indústria e Comércio Ltda., São Paulo – SP



Figura 22. Aspecto da onda pressórica do ventrículo direito obtida por cateter de *Swan Ganz* – Escala em mmHg. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.



Figura 23. Aspecto da onda pressórica da artéria pulmonar obtida por cateter de *Swan Ganz* – Escala em mmHg. FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

A duração total de cada teste foi de 80 minutos, incluindo fases de repouso e exercício, rigorosamente cronometradas segundo protocolo já descrito no capítulo 2.

Os registros de hemodinâmicos foram realizados em repouso antes do exercício (M0), em movimento em 9 momentos sequenciais (M1 a M9) e novamente em repouso 15 e 30 min. após o término do exercício (M10 e M11). Durante o exercício, os valores foram tomados 30 segundos antes de cada mudança de velocidade.

Imediatamente após o término das avaliações, o cateter de *Swan Ganz* foi retirado com o animal ainda sobre a esteira. O introdutor permaneceu implantado na veia jugular direita por 72 horas, sendo irrigado criteriosamente de 8 em 8 horas com solução estéril de cloreto de sódio a 0,9% heparinizada. Após este período, foi retirado por tração e hemostasia por compressão. Foram realizados curativos diários das feridas mediante limpeza com iodo-povidine aquoso e aplicação de pomada repelente por 7 dias.

No dia seguinte ao teste ergométrico I, os animais foram submetidos a indução de tromboflebite jugular, de acordo com protocolo descrito no capítulo 3. Avaliações

ultrassonográficas sequenciais foram realizadas e, quando o trombo atingiu no mínimo o grau 5 (segundo tabela 2, capítulo 3), representando entre 75% e 100% de oclusão do lúmen vascular, os animais foram submetidos ao segundo teste ergométrico.

Para as avaliações do teste II, os mesmos protocolos de implantação de cateteres e exercício foram seguidos.

As avaliações experimentais foram conduzidas segundo delineamento em blocos casualizados, previamente determinado. As variáveis estudadas foram submetidas a à análise multivariada de medidas repetidas (*One way ANOVA*) e, constatada a significância, aplicou-se o teste *Tukey* ($p < 0,05$) para comparação das médias, utilizando-se o *software* SAS 9.0. Os dados apresentam-se como média $\pm$ erro padrão da média (EPM).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. INSTRUMENTAÇÃO E TESTES ERGOMÉTRICOS

A técnica cirúrgica de implantação do introdutor para o cateter de *Swan Ganz* empregada, se demonstrou de fácil e rápida realização, não ocorrendo complicações intra-operatórias. A anestesia local infiltrativa realizada, mesmo na ausência de sedação, foi eficaz em permitir que o procedimento fosse realizado com segurança. O tempo cirúrgico variou entre 5 e 25 min., sendo esta variação atribuída à experiência adquirida pelo cirurgião ao longo do estudo. Por permanecer no lúmen vascular, o introdutor para *Swan Ganz* é pouco rígido, sendo impossível sua implantação sem o expansor tecidual. Assim, o último sempre deve ser acoplado ao introdutor para lhe conferir rigidez.

Os animais não apresentaram sinais de desconforto frente ao introdutor que permaneceu implantado por 72 horas, como previamente determinado. Os introdutores foram retirados por tração e hemostasia por compressão, não ocorrendo sinais de

hemorragia. Demonstra-se assim que a abertura causada no vaso, apesar de maior que a de uma simples punção, não necessita de sutura para reparar a veia jugular. As feridas cicatrizaram por segunda intenção em 5 a 7 dias, não ocorrendo infecções pós-operatórias.

A implantação do cateter de *Swan Ganz* se deu sem maiores dificuldades, mesmo tendo sido realizada sobre a manta de rolagem da esteira. A localização do cateter foi facilmente identificada pelas ondas pressóricas obtidas, ilustradas no presente estudo como características para equinos SRD. Em alguns casos, após a verificação da onda de átrio direito e insuflação do balonete, os traçados de ventrículo e artéria pulmonar não foram observados com a progressão do cateter, supondo-se que o filamento possa ter se enovelado dentro das câmaras cardíacas. Tal complicação foi facilmente contornada retirando-se o cateter e iniciando-se nova introdução.

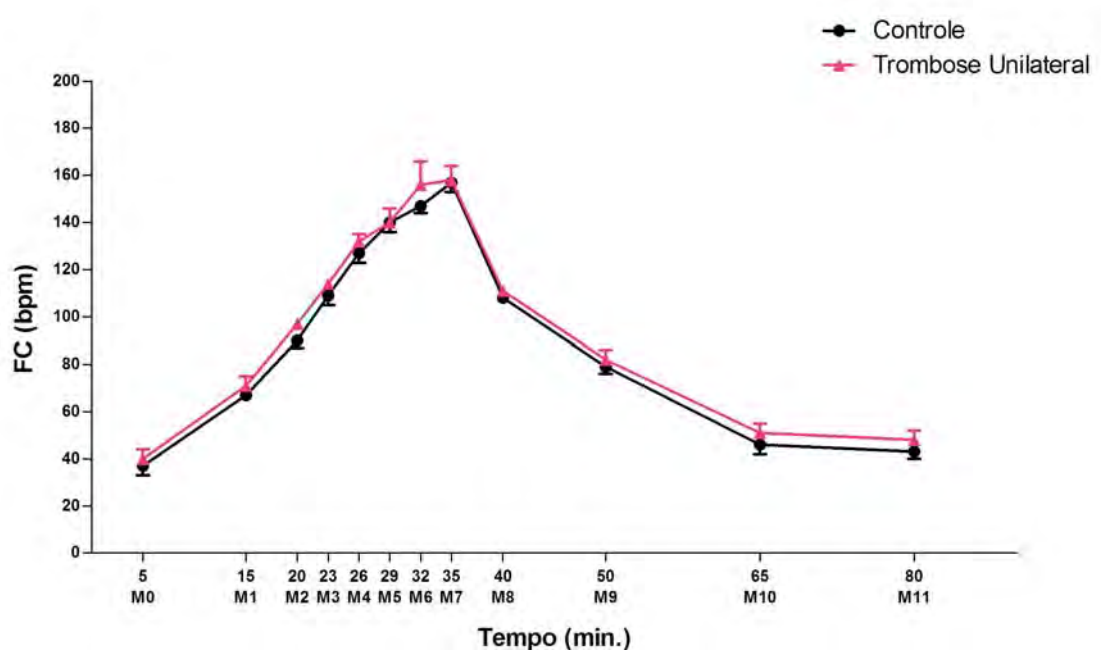
O comprimento do cateter é graduado de 10 em 10 cm e, como os animais apresentavam dimensões semelhantes, foi possível verificar medidas próximas durante a introdução. Considerando o introdutor posicionado no terço médio da veia jugular direita, atingiu-se o átrio direito com aproximadamente 45 cm, o ventrículo direito com aproximadamente 55 cm e a artéria pulmonar com aproximadamente 85 cm.

Os testes ergométricos de esforço progressivo foram realizados sem complicações e todos os registros hemodinâmicos foram obtidos conforme proposto. O Q não foi avaliado, entretanto a temperatura do animal pode ser verificada ao longo do exercício visto que o termistor presente na extremidade do cateter de *Swan Ganz* fornece tais informações. Considera-se de grande valia a obtenção da temperatura durante testes ergométricos, uma vez que na realização de avaliação hemogasométrica, obtém-se a temperatura do animal no momento de colheita para cálculo de variáveis como pH, PO₂ e PCO₂. Assim, implantado com cateter de *Swan Ganz* acoplado ao aparelho adequado, o exercício não necessita ser interrompido para aferição de temperatura retal.

A indução de tromboflebite jugular foi realizada com sucesso, sendo que cinco animais atingiram grau V (entre 75% e 100% de oclusão) e cinco animais apresentaram oclusão completa (grau VI).

5.3.2. FREQUÊNCIA CARDÍACA

Os valores de FC (bpm) apresentaram diferenças entre as médias de M0 a M11, quando avaliado cada teste ergométrico (I e II), sendo que os maiores valores médios, foram obtidos nos momentos de maior velocidade da esteira e intensidade do esforço (Figura 24). Os valores obtidos de M0 a M11, não diferiram entre os testes.



Figura

24. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da FC (bpm) ao longo do tempo, de equinos no repouso e durante o exercício progressivo em esteira rolante (M0-M11). Testes ergométricos I (Controle) e II (Trombose unilateral). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

No presente estudo, o comportamento da FC durante o exercício em ambos os testes, aumentando simultaneamente com a intensidade do esforço, devido à modulação autonômica quanto aos efeitos cronotrópicos positivos, está de acordo com o esperado (DERMAN & NOAKES, 1994; ERICKSON, 1996; DURANDO et al., 2002; POOLE & ERICKSON, 2004). A presença de tromboflebite jugular unilateral não ocasionou alterações hidrostáticas e cardiovasculares que alterassem a modulação parassimpática e simpática da FC no repouso e durante o exercício.

Considerando que segundo SIROTSKY et al. (2010), a FC máxima (FC_{max}) para equinos SRD é de 216,8 bpm, o teste ergométrico realizado atingiu aproximadamente a intensidade de 75% da FC_{max} , caracterizando o exercício como submáximo.

5.3.3. PRESSÃO ARTERIAL

Os valores de PAS (mmHg) apresentaram diferenças entre as médias de M0 a M11, quando avaliado cada teste ergométrico (I e II). Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os testes nos valores médios obtidos no M6 (Figura 25).

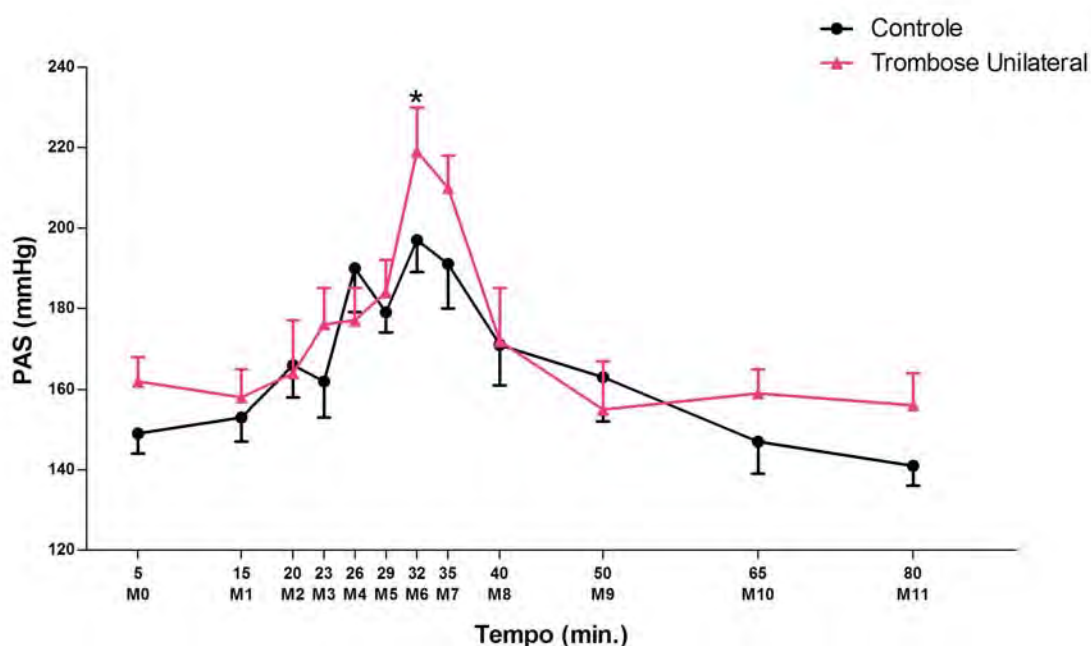


Figura 25. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da PAS (mmHg) ao longo do tempo, de equinos no repouso e durante o exercício progressivo em esteira rolante (M0-M11). Testes ergométricos I (Controle) e II (Trombose unilateral). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

* Indicam diferenças significativas entre os testes.

Os valores de PAD (mmHg) apresentaram diferenças entre as médias de M0 a M11, quando avaliado cada teste ergométrico (I e II). Observou-se diferença significativa ($p<0,05$) entre os testes nos valores médios obtidos em M6 e M8 (Figura 26).

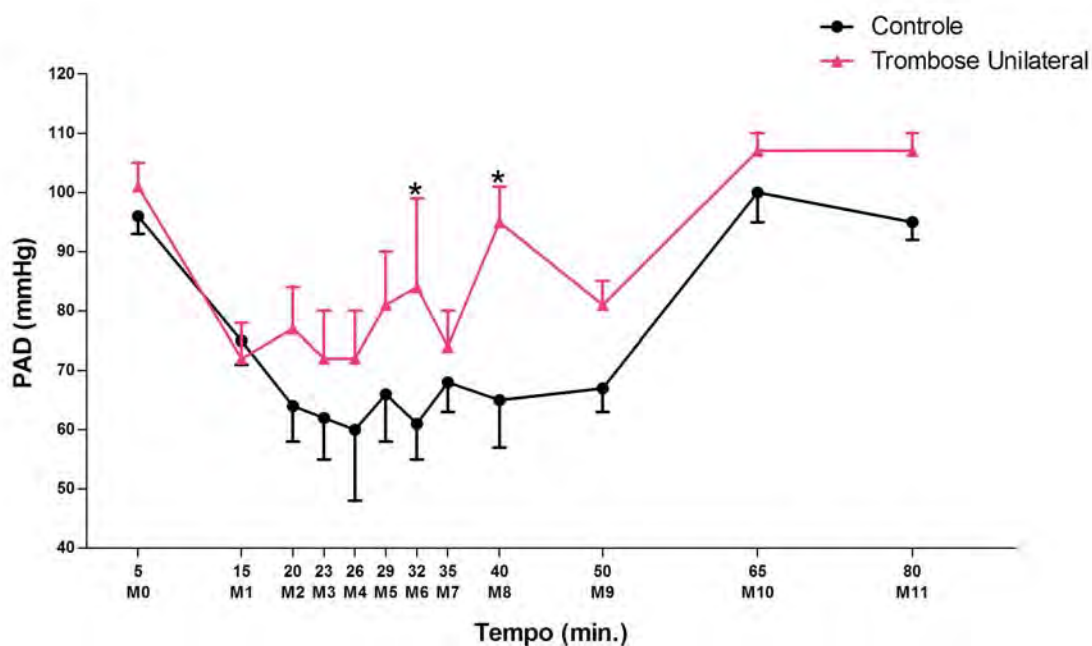


Figura 26. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da PAD (mmHg) ao longo do tempo, de equinos durante no repouso e durante o exercício progressivo em esteira rolante (M0-M11). Testes ergométricos I (Controle) e II (Trombose unilateral). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

* Indicam diferenças significativas entre os testes.

Os valores de PAM (mmHg) apresentaram diferenças entre as médias de M0 a M11, quando avaliado cada teste ergométrico (I e II). Observou-se diferença significativa ($p<0,05$) entre os testes nos valores médios obtidos em M3, M6, M7 e M8 (Figura 27).

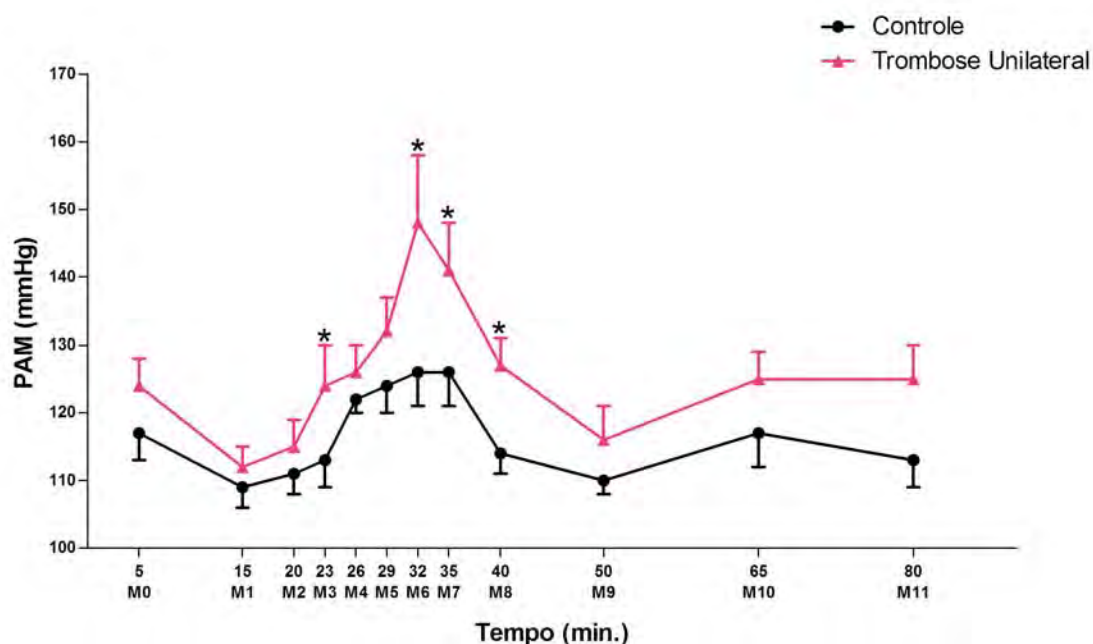


Figura 27. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da PAM (mmHg) ao longo do tempo, de equinos no repouso e durante o exercício progressivo em esteira rolante (M0-M11). Testes ergométricos I (Controle) e II (Trombose unilateral). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

* Indicam diferenças significativas entre os testes.

No presente estudo, o comportamento e valores médios de PAS, PAD e PAM no repouso e durante o exercício, em ambos os testes, aumentando simultaneamente com a intensidade do esforço, estão de acordo com esperado (HÖRNICKE et al., 1977; BERNE et al., 2004).

Foram observadas diferenças significativas ($p<0,05$) nos valores de PAS, PAD e PAM quando comparados os testes I e II, principalmente na maior intensidade do esforço. Portanto, a presença de tromboflebite jugular unilateral ocasionou alterações que influenciaram a pressão arterial durante o exercício. A literatura referente ao assunto em questão é parca, assim o presente estudo apresenta hipóteses na

discussão das diferenças observadas, relacionando as alterações de pressão arterial a princípios de regulação cardiovascular e a presença de inflamação.

A PAM reflete um balanço entre o Q e a resistência periférica total (RPT), que influenciam respectivamente, a PAS e a PAD. A regulação do Q e da RPT se faz por mecanismos neurais e endócrinos, sendo que durante o exercício, o aumento do Q se deve ao aumento da FC (BERNE et al., 2004). Não foram encontradas diferenças significativas nos valores de FC quando comparados os testes I e II, assim as diferenças observadas nos valores de pressão arterial se devam provavelmente a alterações na RPT.

As células endoteliais contribuem na regulação do tono vascular por meio da liberação de diferentes fatores vasoativos. As citocinas presentes nos processos inflamatórios agudos, principalmente TNF- α , IL-1 β e IL-6, podem prejudicar a função endotelial (VILA & SALAICES, 2005). Acredita-se que o processo inflamatório referente a tromboflebite jugular induzida possa ter aumentado a RPT, desestabilizado os mecanismos de regulação da pressão arterial. Como consequência, observou-se aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores de PAS, PAD e PAM quando comparados os testes I e II e, que as diferenças se apresentaram principalmente durante as maiores velocidades da esteira, concluindo-se que a alteração nos parâmetros é agravada pela intensidade do esforço.

5.3.4. PRESSÃO DA ARTÉRIA PULMONAR

Os valores de PAP (mmHg) apresentaram diferenças entre as médias de T0 a T11, quando avaliado cada teste ergométrico (I e II). Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os testes nos valores médios obtidos de M3 a M8 (Figura 28).

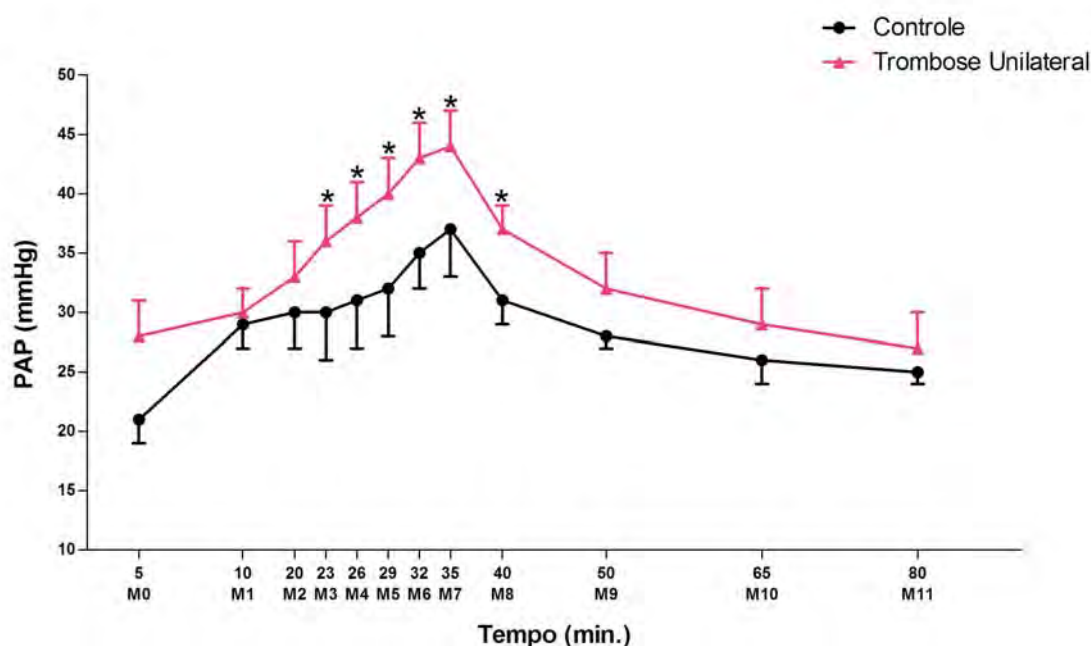


Figura 28. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da PAP (mmHg) ao longo do tempo, de equinos no repouso e durante o exercício progressivo em esteira rolante (M0-M11). Testes ergométricos I (Controle) e II (Trombose unilateral). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

* Indicam diferenças significativas entre os testes.

Os valores de PAP observados no repouso, corroboram os valores encontrados por HACKETT et al. (2003) para *Standardbreds* ($28 \pm 3,9$) e cavalos Puro Sangue ($26 \pm 2,7$), os valores encontrados por MAGID et al., (2000) para cavalos Puro Sangue ($27,6 \pm 1,1$), os valores encontrados por LANGSETMO et al. (2000) para cavalos Puro Sangue ($29,8 \pm 0,7$) e, corroboram ainda os valores encontrados por MUYLLE et al. (1984) para cavalos trotadores ($26,8 \pm 4,3$).

Entretanto, os valores de PAP encontrados no máximo de esforço realizado (75% da FC_{max}) por equinos SRD deste ensaio, encontram-se abaixo dos valores descritos por HACKETT et al. (2003) para *Standardbreds* ($59 \pm 6,8$) e cavalos Puro Sangue ($57 \pm 1,4$). FUNKQUIST et al. (2000), descrevem valores médios de PAP de 72 ± 10 mmHg para *Standardbreds* durante o exercício em esteira à velocidade de $6,8 \pm 0,3$ m/s, diferindo dos valores encontrados no presente estudo.

Supõe-se que o aumento observado nos valores de PAP durante o exercício quando comparados os testes I e II, tenha ocorrido segundo o mesmo princípio descrito para o aumento de pressão arterial nos equinos apresentando tromboflebite jugular unilateral oclusiva.

5.3.5. PRESSÃO VENOSA REGIONAL

Os valores de PVR (mmHg) apresentaram diferenças entre as médias de M0 a M11, quando avaliado cada teste ergométrico (I e II). Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os testes nos valores médios obtidos de M0 a M9 (Figura 29).

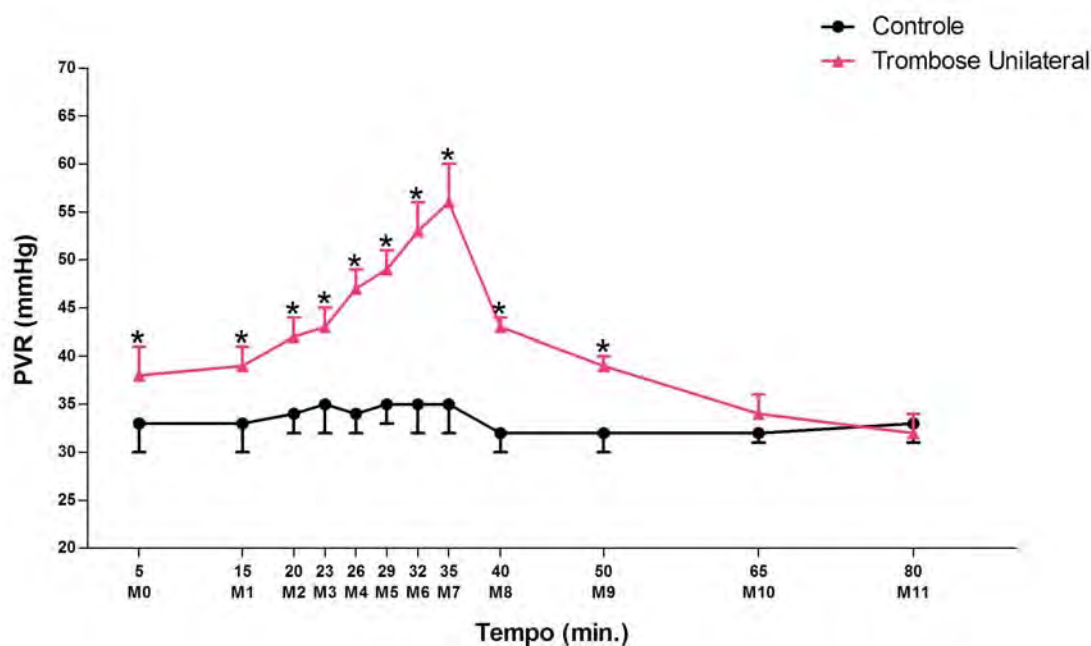


Figura 29. Variação dos valores médios $\pm$ EPM da PVR (mmHg) ao longo do tempo, de equinos no repouso e durante o exercício progressivo em esteira rolante (M0-M11). Testes ergométricos I (Controle) e II (Trombose unilateral). FCAV/Unesp, Jaboticabal – 2011.

* Indicam diferenças significativas entre os testes.

Observou-se que no teste I (controle), não houve variação dos valores de PVR mesmo com o aumento da intensidade do esforço. Entretanto, no teste II, a PVR aferida

na veia jugular esquerda ocluída pelo trombo aumentou de M0 a M9 em relação ao teste I. O incremento da PVR foi atribuído ao efeito mecânico causado pela tromboflebite jugular oclusiva.

A comparação entre as médias dos testes I e II, demonstrou que a oclusão da veia jugular levou a hipertensão venosa severa, que acentuou-se simultaneamente ao esforço realizado. A hipertensão venosa cerebral determina alto risco de ocorrência de acidentes vasculares cerebrais (KANDEL et al., 2000). Ainda, o aumento da pressão hidrostática dos vasos encefálicos pode provocar lesão neurológica por isquemia (KANDEL et al., 2000; GUYTON & HALL, 2002). A tromboflebite é comumente observada em equinos atletas e, muitas vezes estes animais são submetidos à realização de atividade física mesmo apresentando a enfermidade, ressaltando-se o alto risco de ocorrência das complicações causadas pela congestão venosa cefálica nestes indivíduos.

A comparação entre as médias dos testes I e II no repouso após a realização do exercício (M10 e M11), não apresentou diferenças. Sabe-se que o aumento de PVR ocorre devido a oclusão mecânica do vaso (DIAS et al., 2009). Na suspeita de que o trombo tivesse se desprendido durante o exercício, desobstruindo total ou parcialmente a veia, realizou-se exame ultrassonográfico logo após o teste II, constatando que este fato realmente ocorreu em alguns animais. Sugere-se que o aumento do débito cardíaco durante o exercício e o caráter agudo da lesão quando os animais realizaram o teste II, contribuíram para que o trombo, ou parte dele, se desprendesse da parede vascular. Sabe-se que a maior causa de morte devido a trombose em humanos ocorre devido a êmbolos que chegam aos pulmões levando à hipertensão pulmonar (JOFFE & GOLDHABER, 2002). Apesar da ocorrência de hipertensão pulmonar em equinos não ser relacionada à tromboflebite jugular, ressalta-se, mais uma vez, os riscos da realização de atividade física por animais que apresentam a enfermidade na sua fase aguda.

O presente estudo demonstrou alterações hemodinâmicas consideráveis e apresentou informações que podem servir de base para novos ensaios hemodinâmicos em equinos apresentando tromboflebite jugular.

Considera-se ainda que, as avaliações hemodinâmicas completas, incluindo pressão arterial, débito cardíaco, resistência periférica e pressão arterial pulmonar, entre outros, apesar de amplamente pesquisadas em áreas como a anestesiologia, não foram amplamente exploradas nos equinos durante testes ergométricos. Ainda, levando-se em conta as possíveis diferenças entre as raças, sugerimos a necessidade de estudos biométricos traçando um perfil hemodinâmico completo no repouso e durante o exercício de diferentes intensidades em esteira.

6. CONCLUSÕES

- A técnica cirúrgica de canulação da artéria facial e manutenção da patência prolongada do cateter com o uso de solução de heparina e ácido ascórbico, se demonstrou ser de fácil realização, fornecendo acesso arterial invasivo viável para a mensuração da pressão arterial e colheita de amostras sanguíneas durante protocolos experimentais com equinos.
- O modelo experimental de indução de tromboflebite jugular em equinos com o uso de dois agentes esclerosantes associados, as soluções de glicose a 50% e de oleato de etanolamina a 5%, se mostrou eficaz em promover a lesão.
- Comprovou-se a ação fibrinolítica da estreptoquinase na trombólise regional para o tratamento de tromboflebite jugular induzida em equinos.
- Equinos submetidos a teste ergométrico apresentando oclusão unilateral da veia jugular por tromboflebite experimental, apresentaram elevação significativa ($p < 0,05$) nos parâmetros hemodinâmicos mensurados, exceto a frequência cardíaca.

7. REFERÊNCIAS

ASTRUP, T. The haemostatic balance. **Thromb Diath Haemost**, 2:347, 1958.

BANERJEE, A.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Streptokinase – a clinically useful thrombolytic agent. **Biotechnology Advances**, v. 22, p. 287-307, 2004.

BARBOSA, R. G.; BORGHESAN, A. C.; CERQUEIRA, N. F.; HUSSNI, C. A.; ALVES, A. L. G.; NICOLETTI, J. L. M.; FONSECA, B. P. A. Fisiopatologia da trombose e tromboflebite da veia jugular de equinos: revisão. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16(1), p. 26-37, 2009.

BASKURT, O. K.; FARLEY, R. A.; MEISELMAN, H. J. Erythrocyte aggregation tendency and cellular properties in horse, human, and rat: a comparative study. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, v. 273(6), p. H2604-H2612, 1997.

BEARD, L. A. Princípios de tratamento antimicrobiano. *In*: REED, S. M.; BAYLY, W. M. **Medicina interna eqüina**, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 135-161, 2000.

BEN-CHEHIDA, N.; BELLAGHA, A.; BARDI, K. Traitement d'une thrombophlébite chez un cheval par une prothèse en polytetrafluoroethylene (PTFE). **Pratique Vétérinaire Equine**, v. 26(3), p. 169-173, 1994.

BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiologia**, 5 ed. São Paulo: Elsevier, p.1082, 2004.

BONE, J. F.; METCALFE, J.; PARER, J. T. Surgical preparation of a carotid loop in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v. 23, p. 1113-1116, 1962.

BORELL, E. V.; LANGBEIN, J.; DESPRÉS, G.; HANSEN, S.; LETERRIER, C.; MARCHANT-FORDE, J.; MARCHANT-FORDE, R.; MINERO, M.; MOHR, E.; PRUNIER, A.; VALANCE, D.; VEISSIER, I. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals – a review. **Physiology & Behavior**, v. 92, p. 293-316, 2007.

BUTLER, H. C. Subcutaneous relocation of the carotid artery for experimental purposes. **American Journal of Veterinary Research**, v. 23, p. 165-166, 1962.

CANNON, J. H.; RANTANEN, N. W.; GRANT, B. D.; KECK, M. T. Jugular venous prosthesis on the horse: a preliminary study. **Journal of equine veterinary science**, v. 3(6), p. 185-189, 1983.

CHOI, Y. H.; HAN, M. H.; O-KI, K.; CHA, S. H.; CHANG, K. Craniofacial cavernous venous malformations: percutaneous sclerotherapy with use of ethanolamine oleate. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, v. 13(5), p. 475-482, 2002.

COLLEN, D. The plasminogen (fibrinolytic) system. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 82, p. 259-270, 1999.

COMEROTA, A. J.; HARWICK, R. D.; WHITE, J. V. Jugular venous reconstruction: a technique to minimize morbidity of bilateral radical neck dissection. **Journal of Vascular Surgery**, v. 3(2), p. 322-329, 1986.

CORLEY, K. T. T. Monitoring and treating the cardiovascular system in neonatal foals. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 2, n. 1, p. 42-55, 2003.

CORLEY, K. T. T.; DONALDSON, L. L.; DURANDO, M. M.; BIRKS, E. K. Cardiac output technologies with special reference to the horse. **Journal of Internal Medicine**. v. 17, p. 262-272, 2003.

DARGATZ, J.; DARGATZ D. Intravenous catheters and thrombophlebitis. **Reports of Equine Veterinary Meetings**, v. 13(7), p. 379, 1993.

DAS, B. K.; HOQUE, S. Treatment of venous malformations with ethanolamine oleate. **Asian Journal of Surgery**, v. 31(4), p. 220-224, 2008.

DERMAN, K. D.; NOAKES, T. D. Comparative aspects in exercise physiology. *In*: HODGSON D. R.; ROSE, R. J. **The athletic horse**. Philadelphia: Saunders Company, p. 15-18, 1994.

DETWEILER, D. K. Regulação cardíaca. *In*: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 157-169, 1996.

DIAS, D. P. M.; ALBERNAZ, R. M.; SILVA, M. A. G.; GOMIDE, L. M. W.; MARTINS, C. B.; PAIVA-NETO, A. O.; BERNARDI, N. S.; FERINGER-JUNIOR, W. H.; FÁVERO, D. H. M. F.; QUEIROZ-NETO, A.; LACERDA-NETO, J. C. Hemodynamic changes in horses submitted to surgical occlusion by ligation of the jugular vein during progressive exercise on treadmill. **11th Congress of the World Equine Veterinary Association**, Proceedings, 2009.

DIAS, D. P. M.; CANOLA, P. A.; TEIXEIRA, L. G.; ALBERNAZ, R. M.; CANOLA, J. C.; LACERDA-NETO, J. C. Ultrasonographic evaluation of experimental jugular vein thrombophlebitis in horses. **Veterinary Surgery**, v. 39(Sup.1), p. E1-E25, 2010.

DICKSON, L. R.; BADCOE, L. M.; BURBIDGE, H.; KANNEGIETER, N.J. Jugular thrombophlebitis resulting from an anaesthetic induction technique in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 22(3), p. 177-179, 1990.

DIVERS, T. J. Prevention and treatment of thrombosis, phlebitis and laminitis in horses with gastrointestinal diseases. **Veterinary Clinics Equine**, v. 19, p. 779-790, 2003.

DORNBUSCH, P. T.; HUSSNI, C. A.; YOSHIDA, W. B.; SEQUEIRA, J. L.; VULCANO, L. C.; CILLO, G. P. Implante jugular homólogo fixado em glutaraldeído, no equinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 102(561-562), p. 81-86, 2007.

DOTTER, C. T.; ROSCH, J.; SEAMAN, A. J. Selective clot lysis with low-dose streptokinase. **Radiology**, v. 111(1), p. 31-37, 1974.

DYSON, S. J. Problems associated with the neck. *In*: ROBINSON, N. E. **Current Therapy in Equine Medicine**, USA, Saunders, p. 5-6, 1997.

DUECK, R.; SCHROEDER, J. P.; PARKER, H. R.; RATHBUN, M.; SMOLEN, K. Carotid artery exteriorization for percutaneous catheterization in sheep and dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 43, n. 5, p. 898-901, 1982.

DURANDO, M. M.; REEF, V. B.; BIRKS, E. K. Right ventricular pressure dynamics during exercise: relationship to stress echocardiography. **Equine Veterinary Journal**, v. 34 (Suppl.), p. 472-477, 2002.

DURANDO, M.M. Clinical techniques for diagnosing cardiovascular abnormalities in performance horses. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v.2, p.266-277, 2003.

EDENS, L. M. Diseases of arteries and veins. *In*: COLAHAN, P. T.; MAHEW, I. G.; MERRITT, A. M.; MOORE, J. N. **Equine Medicine and Surgery**, St. Louis, v. 1, p. 416-419, 1999.

ERICKSON, B. K.; ERICKSON, H. H.; COFFMAN, J. R. Pulmonary artery, aortic and oesophageal pressure changes during high intensity treadmill exercise in the horse: a possible relationship to exercise-induced pulmonary haemorrhage. **Equine Veterinary Journal**, v. 9, p. 47-52, 1990.

ERICKSON, H. H. Fisiologia do exercício. *In*: SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Fisiologia dos animais domésticos**, 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 227-296, 1996.

ETTLINGER, J. J.; PALMER, J. E.; BENSON, C. Bacteria found on intravenous catheters removed from horses. **The Veterinary Record**, v. 130, p. 248-249, 1992.

EVANS, D. L. Cardiovascular adaptations to exercise and training. **Veterinary Clinics of North America – Equine Practice**, v. 1, p. 513–531, 1985.

EVANS, D. L.; ROSE, R. J. Cardiovascular and respiratory responses in thoroughbred horses during treadmill exercise. **Journal of Experimental Biology**, v. 134, p. 397-408, 1988.

FEUERSTEIN, G. Z.; TOOMEY, J. R.; VALOCIK, R.; KOSTER, P.; PATEL, A.; BLACKBURN, M. N. An inhibitory anti-factor IX antibody effectively reduces thrombus formation in a rat model of venous thrombosis. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 82, p. 1443-1445, 1999.

FUNKQUIST, P.; NYMAN, G.; PERSSON, S. G. B. Haemodynamic response to exercise in Standardbred trotters with red cell hypervolaemia. **Equine Veterinary Journal**, v. 32(5), p. 426-431, 2000.

GARDNER, S. Y.; DONAWICK, W. J. Jugular vein thrombophlebitis. In: ROBINSON, N. E. **Current Therapy in Equine Medicine 3**. Philadelphia: W. B. Saunders, p. 406-408, 1992.

GARDNER, S. Y.; REEF, V. B.; SPENCER, P. A. Ultrasonographic evaluation of horses with thrombophlebitis of the jugular vein: 46 cases (1985 – 1988). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199(3), p. 370-373, 1991.

GEHLEN, H.; BUBECK, K.; ROHN, K.; STADLER, P. Pulmonary artery wedge pressure during treadmill exercise in warmblood horses with atrial fibrillation. *Research in Veterinary Science*, v. 81, p. 134-139, 2006.

GEHLEN, H.; BUBECK, K.; STADLER, P. Pulmonary artery wedge pressure measurement in healthy warmblood horses and in warmblood horses with mitral valve insufficiencies of various degrees during standardised treadmill exercise. **Research in Veterinary Science**, v. 77, p. 257-264, 2004.

GERAGHTY, T. E.; LOVE, S.; TAYLOR, D. J.; HELLER, J.; MELLOR, D. J.; HUGHES, K. J. Assessing techniques for disinfecting sites for inserting intravenous catheters into the jugular veins of horses. **The Veterinary Record**, v.164, p. 51-55, 2009a.

GERAGHTY, T. E.; LOVE, S.; TAYLOR, D. J.; HELLER, J.; MELLOR, D. J.; HUGHES, K. J. Assessment of subclinical venous catheter-related diseases in horses and associated risk factors. **The Veterinary Record**, v.164, p. 227-231, 2009b.

GRAHAM, W. R.; TURNER, C. W.; GOMEZ, E. T. A Method for obtaining arterial blood from the goat. **Missouri Agricultural Experiment Station Research Bulletin**, v. 260, p. 3-15, 1937.

GRIERSON, D. S. & BJORNSSON, T. D. Pharmacokinetics of streptokinase in patients based on amidolytic activator complex activity. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 41(3), p. 304-313, 1987.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 973, 2002.

HACKETT, R. P.; DUCHARME, N. G.; GLEED, R. D.; MITCHELL, L.; SODERHOLM, L. V.; ERICKSON, B. K.; ERB, H. N. Do Thoroughbred and Standardbred horses have similar increases in pulmonary vascular pressures during exertion?. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.67, p.291-296, 2003.

HEYMANS, C.; NEIL, E. **Reflexogenic areas of the cardiovascular system**. J. & A. Churchill Ltd., London, pp. viii + 271, 1958.

HIRAGA, A.; HOBBO, S.; BIRKS, E. K.; TAKAHASHI, T.; HADA, T.; SMITH, B. L.; CARR, E. A.; PASCOE, J. R.; JONES, J. H. Changes in left ventricular dynamics during graded exercise. **Equine Veterinary Journal**, v. 30 (Suppl.) p. 122-125, 1999.

HONG, S. K.; LEE, H. J.; SEO, J. K.; LEE, D.; HWANG, S. W.; SUNG, H. S. Reactive vascular lesions treated using ethanolamine oleate sclerotherapy. **Dermatologic Surgery**, v. 36(7), p. 1148-1152, 2010.

HÖRNICKE, H.; VON ENGELHARDT, W.; EHRLEIN, H. J. Effect of exercise on systemic blood pressure and heart rate in horses. **European Journal of Physiology**, v. 372(1), p. 95-99, 1977.

HUPKENS, P.; COOLEY, B. Comparison of arterial and venous patency in a rat model of subendothelium-stimulated thrombosis. **Microsurgery**, v. 17(4), p. 226-229, 1996.

HUSSNI, C. A.; DORNBUSCH, P. T.; ALVES, A. L. G.; THOMASSIAN, A.; NICOLETTI, J. L. M.; CILLO, G. P.; VULCANO, L. C. Avaliação clínica e angiográfica da vascularização consecutiva à ressecção experimental da jugular de equinos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 13(2), p. 163-168, 2006.

HUSSNI, C. A.; DORNBUSCH, P. T.; YOSHIDA, W. B.; ALVES, A. L. G.; NICOLETTI, J. L. M.; MAMPRIM, M. J.; VULCANO, L. C. Trombectomia com cateter de Fogarty no tratamento da tromboflebite jugular experimental em equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29(1), p. 45-51, 2009.

IWASAKI, T.; CHIDA, N.; SUZUKI, S.; AKAHANE, T.; KOBAYASHI, N.; ISHII, M.; TOYOTA, T. Injection of ethanolamine oleate into a segmental portal branch for pharmacologic hepatic segmentectomy in dogs. **Academic Radiology**, v. 2(6), p. 507-514, 1995.

JHA, S. K.; LUMB, W. V.; JOHNSTON, R. F. Establishment of permanent carotid loops in goats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 22, p. 948-949, 1961.

JOFFE, H.V., GOLDHABER, S.Z. Upper-extremity deep vein thrombosis. **Circulation**, v. 106, p.1874-80, 2002.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. **Principles of neural science**. 4ed. New York: McGraw-Hill, p. 1414, 2000.

KASHYAP, V. S.; QUIÑONES-BALDRICH, W. J. Principles of thrombolytic therapy. In: RUTHERFORD, R. B. **Vascular surgery**, Philadelphia, Saunders, 5ed., v. 1, p. 457-475, 2000.

KIRIPOLSKY, M. G. More on ethanolamine oleate as a vascular sclerosant. **Dermatologic Surgery**, v. 36(7), p. 1153-1154, 2010.

KLOHNEN, A. New perspectives in postoperative complications after abdominal surgery. **Veterinary Clinics of North America – Equine Practice**, v. 25(2), p. 341-350, 2009.

KNOTTENBELT, D. C.; PASCOE, R. R. Disorders of the cardiovascular system. *In*: KNOTTENBELT, D. C.; PASCOE, R. R. **Color Atlas of Diseases and Disorders of the Horse**, Barcelona, Wolfe, p. 165-167, 1994.

KUNAMNENI, A.; ABDELGHANI, T. T. A.; ELLAIAH, P. Streptokinase – the drug of choice for thrombolytic therapy, **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, v. 29, p. 9-23, 2007.

LACERDA NETO, J. C. Respostas orgânicas durante o exercício físico. *In*: **Simpósio sobre nutrição de eqüinos**. Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, Campinas. **Anais**, p. 45-62, 2004.

LANGSETMO, I.; WEIGLE, G. E.; ERICKSON, H. H.; FEDDE, M. R. Influence of frusemide on dynamic cardiac variables during exercise. **Equine Veterinary Journal**, v. 30 (Suppl.), p. 170-173, 1999.

LANKVELD, D. P. K.; ENSINK, J. M.; VAN DIJK, P.; KLEIN, W. R. Factors influencing the occurrence of thrombophlebitis after post-surgical long-term intravenous catheterization of colic horses: a study of 38 cases. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 48, p. 545-552, 2001.

LIN, P. H.; CHEN, C.; SUROWIEC, S. M.; CONKLIN, B.; BUSH, R. L.; LUMSDEN, A. B. Evaluation of thrombolysis in a porcine model of chronic deep venous thrombosis: an endovascular model. **Journal of Vascular Surgery**, v. 33(3), p. 621-627, 2001.

LINZELL, J. L. Carotid loops. **American Journal of Veterinary Research**, v. 24, p. 223-224, 1962.

MAGDESIAN, K. G. Monitoring the critically ill equine patient. **Veterinary Clinics in Equine Practice**, v. 20, p. 11-39, 2004.

MAGID, J. H.; MANOHAR, M.; GOETZ, T. E.; BAKER, G. J.; ULBRICHT, R.; BONTKOWSKI, S.; GHANTOUS, S. Pulmonary vascular pressures of Thoroughbred horses exercised 1, 2, 3 and 4 h after furosemide administration. **Journal of Veterinary Pharmacol Therap**, v. 23, p. 81-89, 2000.

MAIR, T. S.; SMITH, L. J. Survival and complication rates in 300 horses undergoing surgical treatment of colic. Part 2: Short-term complications. **Equine Veterinary Journal**, v. 37(4), p. 303-309, 2005.

MAJERUS, P. W.; BROZE JR., G. J.; MILETICH, J. P.; TOLLEFSEN, D. M. Anticoagulant, thrombolytic, and antiplatelet drugs. *In*: GILMAN, A. G.; RALL, T. W.; NIES, A. S.; TAYLOR, P. **The pharmacological basis of therapeutics**, New York, Pergamon Press, p. 1311-1331, 1990.

MAMMEN, E. F. Pathogenesis of venous thrombosis. **Chest Supplement**, v. 102(6), p. 640S-644S, 1992.

MANOHAR, M.; HUTCHENS, E.; CONEY, E. Pulmonary haemodynamics in the exercising horse and their relationship to exercise-induced pulmonary haemorrhage. **British Veterinary Journal**, v.149(5), p. 419-128, 1993.

MARCUM, J. A.; HIGHSMITH, R. F.; KLINE, D. L. Streptokinase-dependent delayed activation of horse plasminogen. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology**, v. 709(1), p. 19-27, 1982.

MARQUES, J. A.; MASSONE, F. Estudo das alterações cardiopulmonares e hematológicas em equinos pré-medicados com flunitrazepam e levomepromazina e anestesiados pela cetamina. **Ars Veterinária**, v. 4(2), p. 185-195, 1988.

MASAKI, M.; OBARA, K.; SUZUKI, S.; ORIKASA, K.; MITSUHASHI, H.; IWASAKI, K.; SAKAMOTO, H.; MORITO, T.; KASUKAWA, R. The destructive effects of sclerosant ethanolamine oleate on mammalian vessel endothelium. **Gastroenterologia Japonica**, v. 25(2), p. 230-235, 1990.

MATSUDA, K.; SUZUKI, H.; TSUNODA, N.; TANIYAMA, H. Jugular thrombophlebitis developed from buccal ulcer in a thoroughbred horse. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 72(7), p. 913-915, 2010.

McCLYMONT, G. L. A note on the establishment of carotid loops in cattle. **Australian Veterinary Journal**, v. 26, p. 138-139, 1950.

MILLS, P. C.; MARLIN, D. J.; SCOTT, C. M. Pulmonary artery pressure during exercise in the horse after inhibition of nitric oxide synthase. **British Veterinary Journal**, v. 152(2), p. 119-122, 1996.

MILNE, D.W.; MUIR, W.W.; SKARDA, R.T. Pulmonary arterial wedge pressures: blood gas tensions and pH in the resting horse. **American Journal of Veterinary Research**, v. 36(10), p. 1431-1434, 1975.

MIYAKE, R. K.; MIYAKE, H.; DUARTE, F. H.; FIDELIS, R. J. R. Microvarizes e telangiectasias. In: PITTA, G. B. B.; CASTRO, A. A.; BURIHAN, E. **Angiologia e cirurgia vascular: guia ilustrado**, Maceió: UNCISAL/ECMAL & LAVA, 1ed., p. 1-16, 2003.

MOREAU, P.; LAVOIE, J. P. Evaluation of athletic performance in horses with jugular vein thrombophlebitis: 91 cases (1988-2005). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 235(9), p. 1073-1078, 2009.

MORRIS, D. D. Doenças do sistema hemolinfático. *In*: REED, S. M.; BAYLY, W. M. **Medicina interna eqüina**, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 481-518, 2000.

MUYLLE, E.; NUYTEN, J.; DEPREZ, P.; VAN DEN HENDE, C.; OYAERT, W. Pulmonary driving pressure as a pulmonary function test in horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.4, p.57-59, 1984.

NISHIKAWA, M.; SAKAMOTO, K.; HIDAKA, M.; YAMASHITA, A.; YAMAMOTO, G. Venous malformation of the tongue in a child treated by sclerotherapy with ethanolamine oleate: case report. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 41(3), p. 599-600, 2006.

ORSINI, J. A.; ROBY, K. A. W. Modified carotid artery transposition for repetitive arterial blood gas sampling in large animals. **Journal of Investigative Surgery**, v. 10, p. 125-128, 1997.

PARKS, C. M.; MANOHAR, M. Distribution of blood flow during moderate and strenuous exercise in ponies (*Equus caballus*). **American Journal of Veterinary Research**. v. 4(4), p. 1861-1866, 1983.

PARRY, B. W.; MCCARTHY, M. A.; ANDERSON, G. A. Survey of resting blood pressure values in clinically normal horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 16, n. 1, p. 53-58, 1984.

PICCIONE, G.; GIANNETTO, C.; ASSENZA, A.; CASELLA, S.; CAOLA, G. Influence of time of day on body temperature, heart rate, arterial pressure, and other biological variables in horses during incremental exercise. **Chronobiology International**, v. 26, n. 1, p. 47-60, 2009.

POOLE, D. C.; ERICKSON, H. H. Heart and vessels: function during exercise and response to training. *In*: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, R. J. **Equine sports medicine and surgery**. Philadelphia: Saunders, p. 699-727, 2004.

PRASSINOS, N.; RAPTOPOULOS, D.; ADAMAMA-MORAITOU, K.; GALATOS, A. D. Comparision of three different techniques for subcutaneous relocation of the carotid artery in small ruminants. **Journal of the Veterinary Medical Association**, v. 48, p. 15-21, 2001.

RANG, H. P.; DALE, M.M. Haemostasis and thrombosis. *In*:_____. **Phamacology**, New York, Churchill Livingstone, p. 294-296, 1987.

REEF, V. B. Cardiovascular ultrasonography. *In*:_____. **Equine diagnostic ultrasound**, USA, Saunders Company, p. 265-267, 1998.

REIMER, J. M. The torax, heart and vasculature. *In*:_____. **Atlas of equine ultrasonography**, St. Louis, Mosby, p. 165-169, 1998.

RICCO, C. H.; QUANDT, J. E.; NOVO, R. E.; KILLOS, M.; GRAHAM, L. Use of a wireless system to measure invasive arterial blood pressure in ponies – preliminary study. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 36, p. 1-8, 2009.

RIJKENHUIZEN, A. B. M.; VAN SWIETEN, H. A. Reconstruction of the jugular vein in horses with post thrombophlebitis stenosis using saphenous vein graft. **Equine Veterinary Journal**, v. 30(3), p. 236-239, 1998.

ROBINSON, N. E.; The Respiratory System. *In*: MUIR, W.W.; HUBBELL, J.A.E. **Equine Anesthesia (Monitoring and Emergency Therapy)**, St. Louis, Mosby, p. 7-38, 1991.

ROLLO, H. A.; MAFFEI, F. H.; YOSHIDA, W. B.; LASTÓRIA, S.; CURI, P. R.; MATTAR, L. Heparin, heparin plus ASA and dipyridamole, and arteriovenous fistula as adjuvant methods to prevent rethrombosis after venous thrombectomy. Experimental study in rabbits. **International Angiology**, v. 10(2), p. 19-25, 1991.

ROSE, R. J.; HODGSON D. R. An overview of performance and sports medicine. *In*: _____. **The athletic horse**. Philadelphia: Saunders, p. 6-8, 1994.

RUSSELL, T. M.; KEARNEY, C.; POLLOCK, P. J. Surgical treatment of septic jugular thrombophlebitis in nine horses. **Veterinary Surgery**, v. 39, p. 627-630, 2010.

RYU, S.; KIM, J.; BAK, U.; LEE, C.; LEE, Y. L. A hematogenic pleuropneumonia caused by postoperative septic thrombophlebitis in a Thoroughbred gelding. **Journal of Veterinary Science**, v. 5(1), p. 75-77, 2004.

SCOTT, E. A.; BYARS, T. D.; LAMAR, A. M. Warfarin anticoagulation in the horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 177(11), p. 1146-1151, 1980.

SIGEL, B.; SWAMI, V.; CAN, A.; PARSONS, R. E.; GOLUB, R. M.; KOLECKI, R.; KITAMURA, H. Intimal hyperplasia producing thrombus organization in an experimental venous thrombosis model. **Journal of Vascular Surgery**, v. 19(2), p. 350-360, 1994.

SIKRI, N.; BARDIA, A. A history of streptokinase use in acute myocardial infarction. **Texas Heart Institute Journal**, v. 34(3), 2007.

SIROTSKY, C.O.; SANTIAGO, J.M.; ALMEIDA, F.Q.; SILVA, L.L.F.; MIRANDA, A.C.T.; CARRILHO, S.S.; ANDRADE, A.M. Frequência cardíaca de equinos de concurso completo de equitação em teste em esteira de alta velocidade e prova de cross country. *In: XI Conferência Anual da ABRAVEQ*, 2010, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 2010, (Resumo).

SPOKAS, E. G.; WUN, T. C. Venous thrombosis produced in the vena cava of rabbits by vascular damage and stasis. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 27(4), p. 225-232, 1992.

STEGNAR, M.; KOZAK, M.; SABOVIC, M. D-dimer during intra-arterial low-dose streptokinase treatment of peripheral arterial occlusive disease. **Fibrinolysis**, v. 8(Suppl.2), p.105-107, 1994.

STEPHENS, L. C.; HAIRE, W. D.; TARANTOLO, S.; REED, E.; SCHMIT-POKORNY, K.; KESSINGER, A.; KLEIN, R. Normal saline versus heparin flush for maintaining central venous catheter patency during apheresis collection of peripheral blood stem cells (PBSC). **Transfusion Science**, v. 18, p. 187-193, 1997.

TAVERNOR, W. D. Technique for the subcutaneous relocation of the common carotid artery in the horse. **American Journal of Veterinary Research**, v. 30, n. 10, p. 1881-1883, 1969.

THOMAS, D. P.; FREGIN, G. F. Cardiorespiratory and metabolic responses to treadmill exercise in the horse. **Journal of the applied Physiology**. v. 50(4), p. 864-868, 1981.

THOMASSIAN, A. Afecções sanguíneas e vasculares. *In:_____*. **Enfermidades dos cavalos**, São Paulo, Varela, p. 527-529, 1996.

VAN ZYL, W. B.; PRETORIUS, G. H. J.; LAMPRECHT, S.; ROODT, J. P.; KOTZÉ, H. F. PLATSAK, a potent antithrombotic and fibrinolytic protein, inhibits arterial and venous thrombosis in a baboon model. **Thrombosis Research**, v. 98(5), p. 435-443, 2000.

VILA, E.; SALAICES, M. Cytokines and vascular reactivity in resistance arteries. **American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, p. H1016-H1021, 2005.

VIRCHOW, R. Ein Vortrag über die Thrombose vom Jahre 1845. In: VIRCHOW, R. ed. **Gesammelte Abhandlungen zur Wissenschaftlichen Medizin**. Frankfurt: Meidinger, p. 478-486, 1856.

WHITE II, N., A. Intensive care, monitoring and complications of acute abdominal disease. In:_____. **The equine acute abdomen**, Philadelphia, Lea & Febiger, p. 330-332, 1990.

WIEMER, P.; GRUYS, E.; HOECK, B. V. A study of seven different types of grafts for jugular vein transplantation in the horse. **Research in Veterinary Science**, v. 79, p. 211-217, 2005.

ZANETTINI, I.; ZANETTINI, R. M.; GOLLO, G. Escleroterapia como alternativa de tratamento de lesões vasculares bucais. **Revista de Clínica e Pesquisa Odontológica**, v. 2(2), p. 119-126, 2005.