

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA - BOTUCATU

**EFEITO DA ACUPUNTURA NA PREVENÇÃO DA
HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIO
EM CAVALOS PURO SANGUE INGLÊS DE CORRIDA**

PABLO COSTA MAGALHÃES

Botucatu, SP

Maio / 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA - BOTUCATU

**EFEITO DA ACUPUNTURA NA PREVENÇÃO DA
HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA POR EXERCÍCIO
EM CAVALOS PURO SANGUE INGLÊS DE CORRIDA**

PABLO COSTA MAGALHÃES

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia Animal para obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Professor titular Dr. Stelio
Pacca Loureiro Luna

Coorientador: Professor assistente Dr.
Marcos Jun Watanabe

Botucatu, SP

Maio / 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Magalhães, Pablo Costa.

Efeito da acupuntura na prevenção de hemorragia pulmonar induzida por exercício em cavalos puro sangue inglês de corrida / Pablo Costa Magalhães. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Stelio Pacca Loureiro Luna

Coorientador: Marcos Jun Watanabe

Capes: 50501003

1. Equino - Doenças. 2. Pulmões - Hemorragia. 3. Acupuntura veterinária.

Palavras-chave: Acupuntura veterinária; Equinos; Farmacopuntura; Hemorragia pulmonar induzida por exercício (HPIE).

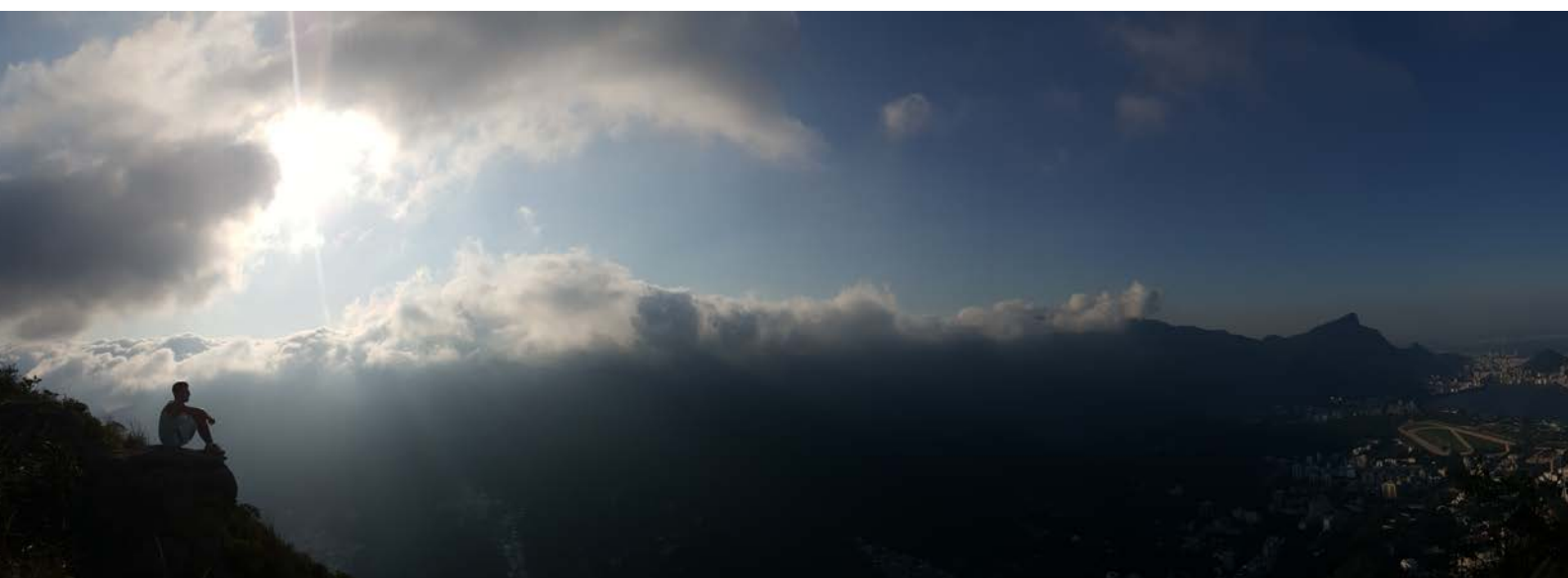
Autor: Pablo Costa Magalhães

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Assistente Dr. José Paes de Oliveira Filho

Prof. Adjunto Pierre Barnabé Escodro

Orientador: Prof. Titular Dr. Stelio Pacca Loureiro Luna



*"Viva como se fosse morrer amanhã,
aprenda como se fosse viver para sempre."*

(Mahatma Gandhi)

DEDICATÓRIA

À minha família.

Meu maior tesouro e maior amor, infinito e incondicional! A base de tudo e minha fortaleza! Dedico a vocês todas as minhas conquistas, não seria diferente com essa!

Aos meus amigos.

Vocês tornam muito mais intenso o lado bom da vida e muito mais leve o lado difícil! Cada passo que dou é com vocês e também para vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradecer é algo tão simples e natural para mim, mas ao mesmo tempo encontrar as palavras certas para fazê-lo em um texto formal, que ficará para sempre gravado numa dissertação de mestrado, eternizada numa biblioteca e disponível a quem buscá-la, é extremamente difícil.

Não muito diferente da maioria, inicio reconhecendo a maravilhosa e constante presença de Deus em minha vida e a Ele agradeço cada oportunidade, cada porta aberta, cada caminho conduzido e cada vitória que conquisto. Sem isso, nada seria possível.

Aos meus pais Zulmira, Rubens e Edgardo. O amor de vocês é extraordinário e sem ele eu jamais suportaria a distância, os momentos difíceis, os desafios! Obrigado pelo apoio sempre e em qualquer condição! Obrigado por me incentivarem, se preocuparem e sempre querer o melhor para mim! Mais uma vez, essa vitória é também de vocês! Amo com toda a força do meu coração!

Aos meus tios e também "pais" Yara e David, que me receberam em sua casa para a execução do meu projeto, me trataram como um filho e me confortaram nos momentos de maior provação! Sem vocês não seria possível realizar esse trabalho.

Ao meu orientador, Stelio, por me ensinar muito além da acupuntura, dos artigos acadêmicos e metodologias científicas! É uma honra ser seu orientado e absorver um pouco da sua paz, cordialidade e alegria contagiante! Serei eternamente grato pela oportunidade, pelo conhecimento compartilhado e pelo exemplo que se tornou para mim.

Também agradeço ao meu co-orientador, Marcos, que participou não apenas do meu mestrado mas também da minha formação como cirurgião de grandes animais. Muito além disso, você me proporcionou um crescimento pessoal que nem imagina! Obrigado por se preocupar, por buscar me formar, por ser exigente e me fazer ver que sou capaz. Obrigado por realmente se importar comigo.

Impossível não agradecer aos meus amigos e equipe que fizeram acontecer esse projeto! Nádia, obrigado por ser meu anjo da guarda nos

bastidores e suporte burocrático! Gabriela, Maurício, Tiago Miglio e Mário, sem vocês eu não teria suportado as madrugadas coletando urina na UNESP, ou fazendo acupuntura nas coxearas do JCB, não teria conseguido um cavalo sequer pra participar do projeto, não seria capaz de fazer uma endoscopia e, o mais importante, não teria sido tão prazeroso trabalhar! Obrigado pela ajuda, por aguentarem minha ansiedade e preocupação, por me acalmarem e me convencerem de que no fim daria certo! Sim, deu certo, e foi graças a vocês! Muito obrigado!

Agradeço à FMVZ UNESP Botucatu pela formação profissional e pelo espaço e animais disponibilizados para realização de parte do estudo. Também ao JOCKEY CLUBE BRASILEIRO na pessoa de Juliana Braga, obrigado por abrir as portas a mim e à execução do projeto. Extendo esse agradecimento a todos os veterinários e treinadores que confiaram a mim seus animais para a realização do experimento. A participação de vocês foi fundamental para essa conquista. E ainda agradeço a toda a equipe do Hospital Veterinário Octavio Dupont (HOD) pela ajuda nas endoscopias, exames laboratoriais e torcida para que tudo desse certo!

À família que construí em Botucatu, que me diverte, me apoia, me faz companhia e participa das minhas conquistas! Marina, Murilo, Ana (meu quarteto fantástico) e todos os maravilhosos amigos que fiz aqui! Vocês tornam meus dias especiais.

Por fim, mas não menos importante, à FAPESP pelo apoio financeiro na bolsa a mim concedida.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - Contextualização	5
1. Introdução e Justificativa	6
2. Revisão de Literatura	7
2.1 Hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (HPIE)	7
2.2 Tratamento da HPIE.....	10
2.3 Acupuntura – bases neurofisiológicas e aplicação clínica no sistema respiratório.....	13
3. Referências Bibliográficas	17
CAPÍTULO 2 - Trabalhos científicos	23
1. Efeito da farmacopuntura com furosemida no débito urinário de equinos.....	24
2. Utilização da acupuntura para prevenção da Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício em cavalos Puro Sangue Inglês de corrida.....	32
CAPÍTULO 3 - ANEXOS	55
1. ANEXO I - Imagens Projeto Piloto.....	56
2. ANEXO II - Imagens do Projeto Principal	59
3. ANEXO III - Modelos de ficha de avaliação utilizadas antes (M0) e depois (M1) do exercício no Projeto Principal	64

MAGALHAES, P. C. Efeito da acupuntura na prevenção da Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício em cavalos Puro Sangue Inglês de corrida. Botucatu - SP, 2015. 66p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu.

Resumo

A hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (HPIE) diminui a performance atlética dos animais e acarreta prejuízos aos criadores. Por apresentar etiologia não elucidada, seu tratamento paliativo é a administração de furosemida, diurético que reduz o volume plasmático, a pressão sanguínea, a ruptura alveolar e a hemorragia. Considerando que a acupuntura atua sobre os diversos sistemas do organismo e levando-se em consideração os efeitos adversos da furosemida, a farmacopuntura poderia promover a diurese e minimizar tais efeitos indesejados. Objetivou-se avaliar o possível efeito dessa técnica em equinos em um projeto piloto. Para tal utilizou-se seis animais, submetidos à quatro tratamentos a um intervalo de pelo menos um dia: furosemida, farmacopuntura associada a acupuntura, falsa farmacopuntura e controle no qual os animais não receberam nenhum tratamento. Avaliou-se o tempo de início da micção após os tratamentos, o débito urinário, a densidade e a frequência de micção. O tempo até o início de micção foi semelhante entre os grupos furosemida e farmacopuntura e se deu nos primeiros 20 minutos de coleta, sendo maior nos demais grupos. O débito urinário foi menor para o grupo controle que o tratado com furosemida. Não houve diferença para a densidade e a micção foi mais frequente após administração de furosemida comparada ao controle e a falsa farmacopuntura. Concluiu-se que a farmacopuntura não influenciou o débito urinário dos animais e, desta forma, optou-se no estudo principal em avaliar apenas o efeito da acupuntura com agulhas secas na prevenção da HPIE. Foram utilizados 18 equinos Puro Sangue Inglês. Cada animal foi seu próprio controle, sendo submetido a exercício intenso três vezes com intervalos de 15 dias, sendo a primeira sem nenhum tratamento (C) e as outras duas, uma após receber 250 mg de furosemida IV (F) e outra após uma sessão de acupuntura (A), ambas quatro horas antes do exercício. Os animais foram avaliados 30 minutos antes,

imediatamente após e 30 minutos após o exercício sendo realizada a avaliação clínica dos parâmetros vitais e do sistema respiratório, exame endoscópico do trato respiratório e coleta de sangue para mensuração de volume globular (VG) e proteína total (PT). O grau de sangramento teve mediana igual a 3 no controle, sem diferença estatística ($P>0,05$) para o tratamento com acupuntura que teve mediana igual a 2,5. O tratamento com furosemida diferiu dos demais ($P<0,001$) apresentando mediana 0,5 para tal variável. Quanto ao exame clínico dos parâmetros vitais e do sistema respiratório, a maioria das variáveis apresentou diferença estatística entre os momentos pré e pós, independente do tratamento avaliado, sem apresentar, entretanto, diferenças entre os tratamentos em um mesmo momento. O VG médio foi mais elevado para o tratamento com furosemida em relação aos demais nos momentos pré e pós exercício. Os valores obtidos de PT diferiram entre os momentos pré e pós, entretanto sem diferir entre os tratamentos avaliados. Concluímos então que apenas uma sessão de acupuntura aplicada quatro horas antes da realização de exercício em cavalos Puro Sangue Inglês de corrida não é capaz de reduzir o grau de sangramento decorrente da HPIE. Novas avaliações com tratamentos contínuos e prolongados devem ser feitas para se inferir melhor a respeito da eficácia da técnica.

Palavras-chave: HPIE, farmacopuntura, equinos, acupuntura veterinária, furosemida

MAGALHAES, P. C. Acupuncture's effect in preventing exercise-induced pulmonary hemorrhage in Thoroughbred race horses. Botucatu - SP, 2015. 66p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu.

Abstract

The exercise-induced pulmonary hemorrhage (EIPH) decreases athletic performance of animals and causes loss to owners. As its etiology has not yet been elucidated, the palliative treatment is the administration of furosemide, a diuretic that reduces plasma volume, blood pressure, alveolar rupture and hemorrhage. Whereas acupuncture acts on various body systems and taking into account the adverse effects of furosemide, pharmacopuncture could promote diuresis and minimize these adverse effects. We aimed to evaluate the possible effect of this technique in horses in a pilot project. For this purpose we used six animals that underwent four treatments with an interval of at least one day: furosemide, pharmacopuncture associated with acupuncture, false pharmacopuncture and control when animals didn't receive any treatment. We evaluated the urination start time after treatment, urine output, the density and frequency of urination. The time to onset of urination was similar between the groups furosemide and pharmacopuncture and was given at the first 20 minutes of collection, being higher in other groups. Urine output was lower in the control group than the one treated with furosemide. There was no difference in the density and urination was more frequent after furosemide administration compared to the control and false pharmacopuncture. It was concluded that the pharmacopuncture did not influence the urinary output of animals and, therefore, it was decided in the main study to evaluate only the effect of acupuncture with dry needles in preventing EIPH. For this, 18 Thoroughbred horses were used. Each animal was its own control, being subjected to intense exercise three times with an interval of 15 days, the first without treatment (C) and the other two, one after receiving 250 mg of furosemide IV (F) and the other after an acupuncture session (A) both four hours before exercise. The animals were evaluated 30 minutes before and 30 minutes after exercise. It was performed clinical assessment of vital signs and respiratory system, endoscopic

examination of the respiratory tract and blood collection for packed cell volume (PCV) measurement and total plasmatic protein (TP). The degree of bleeding had a median of 3 in control, with no statistical difference ($P > 0.05$) for the acupuncture treatment that had a median of 2.5. The treatment with furosemide differed from the others ($P < 0.001$) presenting median 0.5 for this variable. For the clinical examination of the vital signs and respiratory system, most of the variables presented statistical difference between pre and post moments, regardless of treatment assessed without differences between treatments at the same moment evaluated. The average PCV was higher for treatment with furosemide compared to other pre and post exercise times. The values obtained from TP differ between pre and post, however without significant differences among the treatments. We concluded that only one acupuncture session applied four hours prior to exercise in racing Thoroughbred horses are not able to reduce the degree of bleeding resulting from EIPH. New assessments with continuous and prolonged treatment should be made to better infer about the effectiveness of the technique.

Keywords: EIPH, Pharmacopuncture, horses, veterinary acupuncture, furosemide

CAPÍTULO 1 - Contextualização

1. Introdução e Justificativa

O turfe, esporte de origem britânica iniciado por volta do século XVII, incentiva e promove corridas de cavalos, regidas no Brasil, pelo Código Nacional de Corrida. A partir do cruzamento de cavalos aptos para corridas, oriundos do norte da África e os árabes, comprados ou tomados em batalhas, com os melhores cavalos europeus, originou-se o cavalo puro sangue inglês (PSI) de corrida, que praticamente domina esta atividade. Estes animais apresentam grande capacidade atlética, apreciável vigor físico e são considerados os mais velozes do mundo. Constituem a base de uma grande indústria multinacional de criação e de corridas, que incluem apostas (Código Nacional de Corridas).

O sistema respiratório é fundamental para a saúde e o bom desempenho atlético dos equinos, cujas enfermidades são responsáveis por quedas na performance desses animais e consequente prejuízo econômico aos criadores. Neste contexto, as enfermidades pulmonares não infecciosas de maior importância no trato respiratório dos equinos são a obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA), a doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) e a hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (HPIE) (DERKSEN & ROBSON, 2002).

A HPIE é a presença de sangue livre na árvore traqueobrônquica, oriundo dos pulmões, após exercício intenso. Utilizam-se várias técnicas para minimizar o problema, inclusive alterações nos métodos de treinamento, mas não há demonstração científica de resultados. Até o momento, apesar da discrepância entre os países da permissão ou não do uso de fármacos nos animais antes de competição, a furosemida é o fármaco mais utilizado para prevenir HPIE e retardar a progressão das lesões pulmonares (HINCHCLIFF, 2009). Há dados de que 92% dos cavalos PSI correm sob efeito do fármaco na América do Norte, com gasto de cerca de 400 mil doses/ano (HINCHCLIFF, 2005). As conclusões científicas ainda são controversas entre seus benefícios e efeitos adversos, cujo principal é a desidratação rápida e intensa (HINCHCLIFF, 2009).

Assim como na medicina humana, aplicam-se inúmeros métodos para evitar que doenças prejudiquem o desempenho de cavalos atletas, tais como o

uso de massagem, fisioterapia, treinamentos diversificados, alimentação e, até mesmo, uso de fármacos ilegais (PELHAM et al., 2001). Nesse contexto, a medicina complementar tem ganhado popularidade (ANGELI et al., 2007, ANGELI et al., 2008). A farmacopuntura proporciona uma interação entre a medicina tradicional oriental e a farmacologia. A fim de evitar os efeitos adversos causados pelo uso indiscriminado da furosemida, mas garantir a eficácia do tratamento, parte-se da hipótese que a redução da dose do diurético por meio da farmacopuntura, aliado ao efeito da técnica de acupuntura em si, reduz ou controla a incidência de HPIE de forma tão eficaz quanto ao da aplicação sistêmica. Tal técnica reduziria a ocorrência de efeitos adversos normalmente observados com o emprego de doses convencionais da furosemida e poderia melhorar a performance dos cavalos acometidos por HPIE.

2. Revisão de Literatura

2.1 Hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (HPIE)

O cavalo “sangrador” é aquele que apresenta epistaxe após a corrida, ocorrência destacada há pelo menos 300 anos. O “sangrador oculto”, aquele que apresenta sangramento pulmonar sem expelir pelas narinas, permaneceu não identificado até os anos 80. Muitas vezes correlacionou-se o sangramento, oculto ou não, à queda do desempenho atlético dos animais (COOK, 1974). Após a identificação dos pulmões como a fonte da hemorragia em 1974, houve pouco progresso para compreender os “sangradores” até o final da década de 70, quando o diagnóstico dava-se apenas pelo histórico e sinais clínicos como tosse após exercício, deglutições repetidas após as provas, sons rudes à auscultação broncotraqueal e epistaxe em casos graves.

A introdução da técnica de endoscopia de fibra óptica flexível facilitou o exame do trato respiratório superior dos equinos. Os animais afetados demonstram hemorragia desde presença de sangue abundante, até linhas delgadas, quase inaparentes, ou ainda, muco corado de sangue no assoalho da traqueia (KNOTTENBELT & PASCOE, 1998). Deve-se realizar o exame de

30 a 90 minutos após exercício (SWEENEY & REILLY, 2001). A partir de então, diagnostica-se a HPIE por endoscopia das vias aéreas superiores ou, menos rotineiramente, pela contagem de células em lavados bronqueoalveolares (COSTA et al., 2004). Esses autores determinam a classificação da enfermidade de acordo com o grau de sangramento, variando de 0 a 5, da seguinte maneira: Grau 0 – nenhum sangue aparente na traquéia; Grau 1 – Traços de sangue na traquéia; Grau 2 – Presença de filete de sangue na traquéia; Grau 3 – Presença de sangue na traquéia em quantidade superior ao grau anterior; Grau 4 – Presença abundante com acúmulo de sangue na traquéia e Grau 5 – Hemorragia nasal ou presença de sangue abundante e acumulado na traquéia até a orofaringe.

A HPIE aparentemente ocorre em todos os cavalos de corrida em graus variados (HENCHCLIFF, 2007). Um estudo com 191 cavalos de corrida verificou que a HPIE ocorre em 75,4% dos animais (RAPHAEL & SOMA, 1982). A afecção varia de acordo com idade, sexo, distância percorrida e tipo de corrida; as distâncias menores são as que mais causam HPIE (TAKAHASHI et al. 2001). A incidência de HPIE em 1.811 cavalos PSI foi de 48%; em distâncias de 1.000 a 1.200 metros, 47% entre 1.400 a 1.800 metros e 5% em distâncias superiores a 2.000 metros (SCIPIONI et al., 2003). Para Sullivan et al. (2015), apesar das estimativas de prevalência variarem dependendo da amostra de cavalos avaliada e os critérios de avaliação, a afecção pode ser diagnosticada por exame endoscópico em 43 a 75% dos cavalos PSI após uma única corrida, sendo que essa porcentagem pode aumentar para mais de 95% após avaliação de um número maior de corridas.

Quanto à etiologia, a teoria mais difundida é que o aumento extremo na pressão sanguínea durante o exercício facilita a passagem do sangue através da membrana alvéolo-capilar (JONES, 2003). Pode ainda haver ruptura alveolar e extravasamento de sangue para a árvore traqueobrônquica (KING, 1995). A pressão vascular pulmonar durante o exercício intenso pode exceder 75 mmHg, suficiente para extravasar as hemácias para a luz alveolar e espaço aéreo e desencadear inflamação (ERICKSON et al., 1995). Outros autores sugerem que a pressão arterial pulmonar pode aumentar de 25 mmHg no repouso para mais de 95 mmHg durante uma corrida sob velocidade de 14 m/s, o que acontece devido ao aumento do débito cardíaco durante o exercício

(SULLIVAN & HINCHCLIFF, 2015). Esses mesmos autores afirmam que em testes laboratoriais, a pressão necessária para o extravasamento de células sanguíneas do capilar para o interior do alvéolo seria de 75 a 100 mmHg, o que é facilmente atingido por cavalos até mesmo em exercícios menos intensos. Outras possíveis causas de HPIE seriam obstrução do trato respiratório superior, hiperviscosidade sanguínea induzida pelo exercício, estresse mecânico da locomoção (ERICKSON & POOLE, 2002) e inflamação das vias aéreas inferiores (SULLIVAN & HINCHCLIFF, 2015). A obstrução do trato respiratório superior diminui a pressão pleural, o que aumenta a diferença entre a pressão positiva capilar e a pressão negativa intralveolar, favorecendo o extravasamento de células sanguíneas (DUCHARME et al., 1999).

As lesões pulmonares em cavalos com HPIE normalmente ocorrem nas regiões caudodorsais, dada a maior fragilidade dos capilares regionais que recebem maior aporte sanguíneo durante o exercício (SULLIVAN & HINCHCLIFF, 2015).

Não se sabe se o grau de HPIE aumenta progressivamente com o tempo (SULLIVAN et al., 2015a), entretanto as consequências geradas pelos episódios de hemorragia predispõem a novos episódios.

Até o estudo de Hinchcliff et al. (2005) não estava comprovado o comprometimento desportivo causado pela HPIE. Esse estudo mostrou que cavalos de corrida com grau um da enfermidade apresentaram quatro vezes maior possibilidade de vencer as provas, em relação a animais com grau mais elevados. Segundo Costa e Thomasian (2006) há uma associação entre as últimas colocações durante corridas, recorrência e intensidade de HPIE, mesmo em animais pré-medicados com furosemida. Alguns autores ressaltam que além da diminuição da performance, a HPIE diminui o desempenho dos animais devido a perda dos dias de treino após a ocorrência do sangramento e o tempo de recuperação necessário (HINCHCLIFF et al., 2005). Esses autores afirmam ainda que as perdas econômicas no tratamento e manejo da enfermidade são significativas em todo o mundo. Estima-se um gasto anual nos Estados Unidos de US\$ 250 milhões. O estudo de Sullivan et al. (2015a) mostrou que cavalos com grau menor ou igual a 1 ganharam 3,3 vezes mais prêmios em dinheiro durante suas carreiras do que cavalos com grau maior ou igual a 2. Cavalos não acometidos por HPIE ganharam 135 vezes mais

prêmios em dinheiro do que cavalos apresentando grau quatro. Desta forma a HPIE é o maior desafio para a indústria de corridas devido a sua alta prevalência, queda da performance dos animais e as inúmeras discussões e restrições sobre o uso de furosemida em sua prevenção (SULLIVAN & HINCHCLIFF, 2015).

2.2 Tratamento da HPIE

Uma vez que a etiologia da HPIE ainda é incerta, utilizam-se várias terapias para tratá-la, como broncodilatadores, antifibrinolíticos, dilatadores nasais, diuréticos, reológicos, agentes pró-coagulantes, mas nenhuma totalmente eficaz para reduzir ou eliminar o problema (JONES, 2003). A maioria dos tratamentos elege uma das prováveis etiologias da enfermidade a ser controlada e visa reduzir o grau de sangramento ou diminuir as sequelas. A furosemida é o fármaco mais utilizado, apesar de não regulamentado nos códigos de corridas de muitos países (KING, 1995).

São inúmeras as hipóteses para tratar as prováveis etiologias da hemorragia, entretanto poucas se sustentam por estudos científicos. Avaliou-se os fármacos para tratar hipertensão arterial pulmonar (HAP) em humanos, porém num reduzido número de animais e em condições de esteira que não reproduzem fidedignamente as corridas, o que compromete a credibilidade dos estudos. Vasodilatadores de diferentes classes (sildenafil, enalapril, clonidina) também foram avaliados partindo-se da pressuposta semelhança entre HPIE e HAP, entretanto, por essa semelhança não ser real, os resultados desses estudos são contraditórios ou mesmo irrelevantes (SULLIVAN & HINCHCLIFF, 2015). Uma revisão sistemática incluiu a pentoxifilina na lista de tratamentos, agindo como agente reológico que diminui a viscosidade sanguínea, mas não a pressão capilar. Por não se tratar de deficiência na coagulação ou fibrinólise, tentativas de tratamento da HPIE com ácido aminocapróico (inibidor da degradação de fibrina), vitamina K, aspirina, hesperidina, vitamina C, entre outros, não mostraram resultados positivos. Existem ainda as tiras de dilatadores nasais, que evitam o colapso da passagem do ar e contribuem para o aumento da pressão pleural, reduzindo, em teoria, a fragilidade alveolar. Alguns estudos mostram resultados benéficos da prevenção da HPIE por esse

método, entretanto outros questionam. Poucos são os estudos a respeito do tratamento da obstrução das vias aéreas superiores ou da inflamação das vias aéreas inferiores com o intuito de se evitar a HPIE, e ainda não há estudo a respeito do repouso, sobre a prevenção e sequelas da enfermidade (SULLIVAN & HINCHCLIFF, 2015).

Existem conflitos quando se trata da eficácia da furosemida em prevenir a HPIE, para Sullivan e Hinchcliff (2015) isso se deve a falhas na metodologia de avaliação ou de análises estatísticas. Os autores ressaltam que há, atualmente, inúmeros estudos aleatórios, cegos, com controle placebo, realizados sob condições de corridas que mostram que a furosemida pode sim reduzir o grau de sangramento pulmonar. Um estudo de meta-análise em 5.653 cavalos acometidos por HPIE mostrou que a furosemida foi eficaz na redução do grau de sangramento quando aplicada antes da corrida em cavalos Standardbred e Puro Sangue Inglês (SULLIVAN et al., 2015b).

A furosemida é um diurético de alça que apresenta início de ação rápido e curta duração (HINCHCLIFF & MUIR, 1991).

O fármaco reduz a reabsorção dos eletrólitos sódio, cloreto, cálcio, magnésio e íons hidrogênio, por bloquear as bombas de sódio-potássio-cloreto ($\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$), no ramo ascendente da alça de Henle do néfron. Por se ligar competitivamente ao receptor de Cl^- do contratransportador luminal $\text{Na}^+\text{K}^+2\text{Cl}^-$ a inibe a concentração do fluido tubular (HINCHCLIFF & MUIR, 1991). Também aumenta a excreção de potássio no túbulo distal. Tal perda de eletrólitos drena a água livre para o interior dos túbulos e aumenta o volume de urina (WATSON, 2011).

Por ser um ácido orgânico e por se ligar à membrana do túbulo distal, a furosemida é influenciada por vários fatores fisiológicos, como secreção de ácidos orgânicos, fluxo sanguíneo renal e a concentração de proteínas plasmáticas e sua ligação com o fármaco (HINCHCLIFF & MUIR, 1991).

Não está claro o mecanismo pelo qual a furosemida previne HPIE. Especula-se que a diminuição no volume de água e fluido intravascular atenua a hipertensão arterial pulmonar tipicamente associada ao exercício e reduza a incidência da ruptura capilar alveolar e a hemorragia (HINCHCLIFF, 2009). A administração de furosemida em humanos com edema pulmonar reduz o fluxo sanguíneo local e em cães anúricos reduz a pressão arterial pulmonar. Explica-

se tais efeitos pela vasodilatação causada pelo fármaco (HINCHCLIFF & MUIR, 1991). Os mesmos autores afirmam que há uma redução da secreção de histamina em fragmentos de pulmão humano sensibilizados por alérgenos *in vitro*. A diminuição de liberação de mediadores inflamatórios explicaria a atenuação da broncoconstrição decorrente de exercício físico ou inalação de alérgeno.

Em resumo, os efeitos extrarrenais da furosemida são a redução da pressão atrial, da pressão arterial pulmonar e do débito cardíaco e o aumento da frequência cardíaca em resposta à redução da pressão, com compensação da hipovolemia. O quadro de hipovolemia pode persistir de quatro a oito horas em cavalos com restrição hídrica (HINCHCLIFF & MUIR, 1991).

A furosemida aplicada na dose de 500 mg IV quatro horas antes da corrida foi eficaz na prevenção da HPIE (HINCHCLIFF, 2009). Oslen et al. (1992) estudaram a utilização de quatro diferentes doses de furosemida e as respostas hemodinâmicas causadas em cavalos de corrida durante o exercício. As doses de 0,25; 0,50; 1,0; e 2,0 mg/Kg e controle (10mL de NaCl 0,9%) foram administradas IV a seis animais, quatro horas antes do exercício. A dose de 2 mg/Kg reduziu a pressão atrial direita em repouso (RAP). As doses de 0,25 a 2,0 mg/Kg reduziram a RAP e a pressão arterial pulmonar (PAP) durante o exercício, de maneira dose dependente. Os autores indicam que a furosemida tem outras propriedades hemodinâmicas além de seu efeito diurético, mediando efeitos cardiopulmonares através da atividade vasodilatadora que diretamente reduz a PAP, sendo assim eficaz na prevenção da HPIE em cavalos de corrida.

O Código Nacional de corridas, na sessão que regulamenta o uso da furosemida, artigo 2º, parágrafo I, define que se aceita o uso do fármaco numa dose mínima de 100 e máxima de 250 mg IV quatro horas, ou mais, antes do horário do páreo.

Quando aplicado por via intravenosa, a ação do fármaco se dá de forma rápida e breve. O fluxo urinário se inicia em aproximadamente 15 minutos, atinge o pico por volta de 30 minutos e retorna ao normal entre uma e duas horas. A furosemida IV apresenta as meias vidas alfa, beta e gama de 5,6, 22,3 e 158,5 minutos respectivamente. O clearance em animais saudáveis é de 503 ml/Kg/hora (HINCHCLIFF & MUIR, 1991). Por via intramuscular, a meia vida da

furosemida é muito maior e aumenta o fluxo urinário para até oito horas. Reporta-se uma produção de até 14,3 litros de urina nesse período quando administrada na dose 1 mg/Kg, contra 2,3 litros no mesmo período em animais controle.

Apesar dos efeitos desejáveis na prevenção da HPIE, os efeitos adversos associados ao tratamento com furosemida são importantes. Por afetar a absorção de eletrólitos, o fármaco pode induzir anormalidades no equilíbrio hídrico e eletrolítico e causar desidratação rápida e intensa, que predispõe à síndrome de exaustão e cólica nos equinos. Deve ser usada com extremo cuidado em indivíduos com alterações renais. Também causa ototoxicidade, potencializada com o uso concomitante de amino glicosídeos (WATSON, 2011) e efeito inotrópico negativo em animais (HINCHCLIFF & MUIR, 1991).

2.3 Acupuntura – bases neurofisiológicas e aplicação clínica no sistema respiratório

A acupuntura é a estimulação de pontos pré-determinados e específicos no organismo para se alcançar um efeito terapêutico ou homeostático (SCHOEN, 1993). O acuponto é um ponto da pele com menor resistência elétrica em relação a regiões adjacentes (HWANG & EGERBACHER, 2001). Muitos acupontos situam-se em depressões superficiais nas junções musculares e são áreas cutâneas providas de altas concentrações de terminações nervosas livres, plexos nervosos, mastócitos, vasos linfáticos, arteríolas e vênulas (HARMAN, 1993; LUNA, 1998).

A acupuntura apresenta vários efeitos fisiológicos nos sistemas orgânicos (STEISS, 2001). As teorias da medicina tradicional oriental explicam tais efeitos por 4.000 anos, baseadas em observações empíricas e na descrição de fenômenos ocorridos na natureza (LUNA, 1993; SCHOEN, 1993). As pesquisas científicas explicam muitos destes efeitos, por meio da teoria neural não opióide, teoria humoral, da bioeletricidade e relações somatoviscerais (HARMAN, 1993; SCHOEN, 1995). A teoria neural não opióide indica que a acupuntura inibe os impulsos conduzidos pelas fibras nervosas e atua nos sistemas nervosos periférico e central, já a teoria humoral baseia-se na evidência de que a acupuntura estimula a liberação de opióides endógenos e

outros hormônios e neurotransmissores e por atuar em vários locais do sistema nervoso central, inibe a percepção dolorosa e a transmissão da dor da medula espinhal por inibição descendente (GIDEON, 1977; LUNA & TAYLOR, 1998; LUNA, 2001).

Por meio de seus efeitos neuroendócrinos e regulação homeostática, a acupuntura apresenta benefícios para modular a motilidade gastrintestinal (LUNA & JOAQUIM 1998), o sistema reprodutor (ALVARENGA et al. 1998), a coagulação sanguínea (LUNA et al. ; 2003; ANGELI et al. 2005), a produção de leucócitos e o período de cicatrização (XIE et al., 1996) e inclusive a performance de cavalos atletas (ANGELI & LUNA, 2008)

Utiliza-se inúmeras técnicas para estimular os acupontos. As mais comuns são acupuntura com agulhas, eletroacupuntura, farmacopuntura, moxabustão, estimulação a LASER, implantes de ouro e acupressão. O número de tratamentos necessários depende da enfermidade tratada e da cronicidade do problema. O tempo de cada tratamento pode variar de 5 a 30 minutos (SCHOEN, 1993).

Dentre as técnicas da acupuntura, a farmacopuntura apresenta a vantagem de minimizar o uso indiscriminado de fármacos, os efeitos adversos e o custo, além da rapidez da técnica, por não haver necessidade de se manter as agulhas por um período prolongado, como na técnica convencional, particularmente em animais agitados, como em equinos atletas. Este método agrega o estímulo tradicional dos acupontos com a distribuição local do agente farmacológico e supostamente potencializa e prolonga o efeito do fármaco (WYNN et al., 2001).

Diversos estudos em medicina veterinária comprovam a eficácia da técnica. Uma dose subclínica de prostaglandina (0,5 mg de PDGF_{2α}) injetada no acuponto BaiHui apresentou a mesma eficácia que a dose convencional por via IM (5mg/kg), para induzir luteólise e reduzir a concentração plasmática de progesterona (ALVARENGA et al., 1998). A aplicação de 1/10 da dose de acepromazina (0,01 mg/kg) no ponto Vaso Governador 1 induziu sedação semelhante ao da dose convencional IM (0,1 mg/kg) em cavalos (LUNA et al., 2006). A farmacopuntura, pela aplicação de butorfanol e aminofilina, também foi eficaz para tratar colapso traqueal em cães (KIM et al., 2006).

Quando se trata especificamente do sistema respiratório, animais tratados de maneira convencional e com remissão dos sinais clínicos nem sempre estão completamente curados, visto que a reintrodução do fator predisponente pode colaborar para o ressurgimento dos sinais. Nesse aspecto, acupuntura, eletroacupuntura e ervas chinesas têm se mostrado excelentes adjuvantes no tratamento desses animais, melhorando a qualidade de vida daqueles que sofrem de doenças respiratórias crônicas (TANGJITJAROEN et al., 2009).

Estudos indicam que a acupuntura e eletroacupuntura induzem broncodilatação média a moderada. A punção dos pontos Pulmão 7, Fígado 11 e 14, Pericárdio 3 e 6, Estômago 40 por 15 minutos aumentou o volume expiratório forçado em pacientes humanos com asma (CHU et al., 2007).

A melhora em parâmetros da função pulmonar (pressão pleural, volume corrente, ventilação por minuto e picos de fluxos inspiratório e expiratório) também foi reportada em cavalos acometidos por obstrução recorrente das vias aéreas, apesar de os aumentos não serem estatisticamente significativos (WILSON et al., 2004). Apesar da hipótese de a acupuntura melhorar a função pulmonar de cavalos com obstrução recorrente das vias aéreas, por atuar sobre atividade neural simpática e liberar opióides e catecolaminas que produzem broncodilatação e inibir a liberação de acetilcolina dos nervos parassimpáticos, esses autores não observaram diferença entre tratamento com acupuntura e o controle em cavalos com esta patologia. Os autores questionaram o resultado pelo tratamento ter sido de apenas uma sessão. Skarda et al. (2001) também não observaram influência significativa da acupuntura ou eletroacupuntura sobre os sistemas respiratório e cardiovascular de éguas adultas, entretanto demonstraram que essas técnicas são eficazes para aumentar o limiar de dor cutânea a visceral. Os efeitos analgésicos produzidos foram revertidos por naloxona, indicando um mecanismo opióide para a produção de analgesia pela técnica testada.

Em contrapartida, Peterman (2001) relata sucesso na utilização da acupuntura em casos emergenciais de asfixia neonatal em potros. Em sua prática clínica o acuponto Estômago 40 é capaz de remover muco dos pulmões e exercer função beta-mimética, promovendo dilatação dos bronquíolos e por consequência combatendo broncoespasmos. Segundo o autor também são

pontos importantes o shu do pulmão e do diafragma: Bexiga 13 e 17, e também o ponto Vaso da concepção 17.

O acúmulo de muco não é apenas um problema na asfixia neonatal, mas também pode ser consequência da inflamação das vias aéreas quando o transporte muco ciliar se torna comprometido. Tai et al. (2006), demonstraram que eletroacupuntura em Pulmão 1 e Vaso da Concepção 22 aumentou significativamente a taxa do transporte mucociliar da traquéia de codornas quando comparada ao grupo controle. Além disso esses acupontos reverteram o déficit induzido do transporte mucociliar. A eletroacupuntura também se mostrou eficaz ao reduzir a infiltração de células inflamatórias no tecido peribronquial e no espaço perivascular pulmonar em ratos com asma (CARNEIRO et al., 2005). Esse estudo também provou que o número total de células nucleadas e a porcentagem de neutrófilos e eosinófilos no lavado broncoalveolar foi significativamente menor quando comparado ao controle ou a eletroacupuntura realizada em pontos falsos.

Merriam (1997) também relata que a incorporação da acupuntura em sua prática clínica expandiu suas opções de diagnóstico e tratamento, além de permitir a recuperação de cavalos anteriormente tratados pela medicina ocidental sem sucesso.

Os estudos relacionados a acupuntura veterinária publicados no ocidente, conduzidos sob critérios aceitos para a boa qualidade de pesquisas científicas, nem sempre favorecem o uso da técnica (RAMEY et al., 2005). Em contrapartida existe na literatura oriental uma gama de estudos em equinos, porém esses não possuem fácil acesso e nem sempre são publicados em inglês. Os resultados desses estudos são, em sua maioria, positivos, apesar de grande parte dessa literatura não se adequar aos critérios estabelecidos para pesquisas científicas de boa qualidade, sendo comuns os formatos de relato de caso sem a presença de um grupo controle. A pouca confiabilidade dos resultados da literatura oriental se relaciona com a falta de estudos com métodos eficazes de aleatorização, cegos, com amostragem suficiente e com ausência de controles ou grupos sham (acupuntura em pontos falsos) (RAMEY et al., 2005). Assim sendo, estudos bem delineados e imparciais sobre acupuntura veterinária em equinos são necessários para o real conhecimento da eficácia e aplicabilidade das técnicas estudadas.

3. Referências Bibliográficas

ALVARENGA, M.A.; FERREIRA, J.E.P.; MEIRA, C.; LUNA, S.P.L.; BURNS, P.J. Induction of luteolysis in mares utilizing a micro-dose of prostaglandin in the sacral lumbar space (Bai Hui accupoint). *Journal of Equine Veterinary Science*, v.18, p.167-168, 1998.

ANGELI, A. L., JOAQUIM, J. G. F., LUNA, S. P. L., Acupuntura aplicada à medicina esportiva equina. *Revista Acadêmica*, v.5, n.3, p.325-33, 2007.

ANGELI, A. L., LUNA, S. P. L. Aquapuncture Improves Metabolic Capacity in thoroughbred Horses. *Journal of Equine Veterinary science*.v.28, n.9, 2008.

ANGELI, A.L., JOAQUIM, J.G.F., TAKAHIRA, R.K., BULLA, C., LUNA, S.P.L. Effect of acupuncture, electroacupuncture and Panax pseudoginseng in blood coagulation variables in horses. *Veterinary Record*, no prelo, 2005.

ANGELI, A.L., LUNA, S. P. L., GAROTTI, J. R. Aquapuntura no tratamento das síndromes equinas: há efeito sobre os valores hematológicos e de cortisol? *ARS Veterinária*. v.24, n.3, p.153-160, 2008b.

CARNEIRO, E. R., CARNEIRO, C. R., CASTRO, M. A., YAMAMURA, Y., SILVEIRA, V. L. Effect of electroacupuncture on bronchial asthma induced by ovalbumin in rats. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*.v.11, p.127–134, 2005.

CHU, K. A., WU, Y. C., TING, Y. M., WANG, H. C., LU, J.Y. Acupuncture therapy results in immediate bronchodilating effect in asthma patients. *Journal of Chinese Medicine Association*.v.70, p.265–268, 2007.

Código Nacional de Corridas, elaborado pela Comissão Coordenadora da Criação do Cavalo Nacional – CCCCN, 1984, Brasil.

COOK, W. R. Epistaxis in the race horses. *Equine Veterinary Journal*.v.6, p.45-48, 1974.

COSTA M.F.M., THOMASSIAN, A., GOMES, T.S., MAIA, E. Estudo da hemorragia pulmonar induzida por esforço (HPIE) em cavalos de corrida PSI através de 1889 endoscopias respiratórias após corrida. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. v.11, n.3, p.89-91.2004.

COSTA, M.F.M., THOMASSIAN, A. Evaluation of race distance, track surface and season of the year on exercise-induced pulmonary haemorrhage in flat racing Thoroughbreds in Brazil. *Equine Veterinary Journal*, v.38, Suppl. 36, p.487-9, 2006.

DERKSEN, F.J., ROBSON, N.E. Overview of the equine respiratory system. In: LEKEUX, P. Equine Respiratory Disease. Ithaca: International Veterinary Information Service, 2002.

DOUCET, MICHÈLE Y.; VIEL, LAURENT. Clinical, radiographic, endoscopic, Broncho alveolar lavage and lung biopsy findings in horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. The Canadian Veterinary Journal. v.43, p.195-202, 2002.

DUCHARME, N.G., HACKETT, R.P., GLEED, R.D., AINSWORTH, D.M., ERP, H.N., MITCHELL, L.M., SODERHOLM, L.V. Pulmonary capillary pressure in horse undergoing alteration of pleural pressure by imposition of various upper airway resistive loads. Equine Veterinary journal, v.37, p.27-33, 1999.

ERICKSON, H.H., O'DEA, J.C., PASCOE, J., ROBINSON, N.E., SWEENEY, C.R. Exercise-induced pulmonary hemorrhage (EIPH). Journal of veterinary science. v.15, n.11, p.464-66. 1995.

ERICKSON, H.H.; POOLE, D.C. Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage. In: LEKEUX, P. Equine Respiratory Disease. Ithaca: International Veterinary Information Service, 2002.

FURTADO, C. E. Perspectivas da equinocultura no Brasil. In: ZOOTEC2004, Brasília. Proceedings. p. 1-15. 2004.

GIDEON, L. Acupuncture: clinical trials in the horse. Journal of the American Veterinary Medical Association. v.170, p.220-224, 1977.

HARMAN, J.C. Backs, performance and acupuncture. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 1993 Lexington. Proceedings. p.337-348. 1993.

HINCHCLIFF, K.W. Exercise-induced pulmonary hemorrhage. In: MCGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; ROBINSON, N.E.; SCHUMACHER, Journal of Equine Respiratory Medicine and Surgery, Philadelphia: Saunders Elsevier, p. 617-629, 2007.

HINCHCLIFF, K.W., MORLEY, P.S., GUTHRIE, A.J. Efficacy of furosemide for prevention of exercise-induced pulmonary hemorrhage in thoroughbred racehorses. Journal of American Veterinary Medical Association. v.235, p.76-82, 2009

HINCHCLIFF, K.W., MUIR, W.W. Pharmacology of Furosemide in the horse: a Review. Journal of veterinary internal medicine, v.5, p.211-18, 1991.

HINCHCLIFF, K.W.; JACKSON, M.A.; MORLEY, P.S.; BROWN, J.A.; DREDGE, A.E.; O'CALLAGHAN, P.A.; McCAFFREY, J.P.; SLOCOMBE, R.E.; CLARKE, A.E. Association between exercise-induced pulmonary hemorrhage and performance in Thoroughbred racehorses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 227, n. 5, p. 768-774, 2005.

HINCHCLIFF, K.W; MUIR, W.W. Pharmacology of Furosemide in the Horse: A Review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.5, p.211-218, 1991.

HWANG, Y.C.; EGERBACHER, M. Anatomy and classification of acupoints. In: SHOEN, A.M. (Ed.) *Veterinary acupuncture: ancient art to modern medicine*. p.19-25. 2001.

JONES, W.E. What do we know today about EIPH? *Journal of Equine Veterinary Science*. v.23, n.6,p.283-84. 2003.

KIM, B. Y., KIM, T. H., KIM, K. S., KIM, W. B., LIU, J., SONG, K. H., KIM, D. H., ROGERS, P. A. Treatment of tracheal collapse in two dogs by injection acupuncture. *Veterinary Records*.v.159, p.602-603, 2006.

KING, C. EIPH: Rational approach to therapy. *Journal of equine Veterinary science*.v.15, n.1, p.7-12. 1995.

LUCKENBILL, B. Introduction to Equine Acupuncture. In: *Proceedings of the north American veterinary conference*. v.20, p.143-145, 2006

LUNA, S.P.L. Emprego da acupuntura em anestesia. In: FANTONI, D.T.; GAIDO, S.R.C. (Eds.) *Anestesia em cães e gatos*. São Paulo: Roca, p.337-345, 2001.

LUNA, S.P.L. Equineopioid, endocrineandmetabolic responses toanaesthesia, exercise, transportandacupuncture.1993.279p. Tese (PhD) – Universidade de Cambridge, Cambridge.

LUNA, S.P.L.; ANGELI, A.L.; FERREIRA, C.L.; LETTRY, V.; SCOGNAMILLOSZABÓ, M. Comparison of pharmacopuncture, aquapunctureand acepromazinefor sedation of horses.*Evidence-BasedComplementaryandAlternative Medicine*, Oxford, 2006.

LUNA, S.P.L.; BULLA, C.; TAKAHIRA, R.K.; XAVIER, F.; MAIANTE, A.; ANGELI, A.L. Efeito da acupuntura e da acupuntura associada aPanaxpseudoginseng sobre as variáveis hemostáticas em cães. *Revista científica de medicina veterinária, pequenos animais e animais de estimação*, v.1, p.119-122, 2003.

LUNA, S.P.L.; JOAQUIM, J.G.F. Effect of electroacupuncture on intestinal motility in dogs. In: ANNUAL INTERNATIONAL CONGRESS ON VETERINARY ACUPUNCTURE, 24., 1998, Taiwan. Proceedings... Taiwan, 1998.p.134-136.

LUNA, S.P.L.; TAYLOR, P.M. Cortisol, peptides and catecholamines in cerebrospinal fluid, pituitary effluent and peripheral blood of ponies. *Equine Veterinary Journal*, v.30, p.166-169, 1998

MERRIAM, J. G. Acupuncture in the treatment of back and hindleg pain in sport horses. In: AAEP Proceedings. v.43, p.325-326, 1997.

OLSEN, S. C., COYNE, C. P., LOWE, B. S., PELLETIER, N., RAUB, E. M., ERICKSON, H. H. Influence of furosemide on hemodynamic responses during exercise in horses. *American Journal of Veterinary Research*. v.53, n.5, p. 742-47, 1992.

PASCOE, J.R., FERRARO, G.L., CANNON, J.H.;ARTHUR, R.M.; WHEAT, J.D.Exercise-Induced Hemorrhage in racing Thoroughbreds:A preliminary study.*American Journal of Veterinary Research*.v.42, p.703-707, 1981.

PELHAM, T. W.; HOLT, L. E.; STALKER, R. Acupuncture in human performance.*Journal of Strength and Conditioning Research*, v. 15, n. 2, p. 266-271, 2001.

PETERMAN, U. Acupuncture in Emergency Treatment. In: 27th international congress on veterinary acupuncture, Ontário – Canadá. Proceedings. p. 45-56. 2001.

RAMEY, D. W. Acupuncture and 'traditional Chinese medicine' in the horse.Part 2: A scientific overview. *EQUINE VETERINARY EDUCATION*. v. 17, n.2, p.106-112, 2005.

RAPHAEL, C.F.; SOMA, L.R. Exercise-induced pulmonary hemorrhage in Thoroughbreds after racing and breezing.*American Journal of Veterinary Research*.v.43, n.7., p.1123-1125, 1982.

SCIPIONI, H.L.; CUTAIN, A.G.; SMETANA, A.; PETRONE, N.J.; ROCCATAGLIATA, C.A. Estudio estadístico de la hemorragia pulmonar inducida por el ejercicio de sangre pura de carrera em la Republica Argentina. In: Anais do Congresso de La Asociación Mundial De Veterinária Equina, v.8. CONGRESSO NACIONAL DEL TURF, Buenos Aires, 2003. p.178-182.

SHMALBERG, J.& XIE, H. The clinical application of equine acupuncture. *Journal of Equine Veterinary Science*.v.29, n.8., p.645-652, 2009.

SHOEN, A.M. Equine acupuncture: incorporation into lameness diagnosis and treatment. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 1995, Lexington. Proceedings... Lexington, 1995.p.135-137.

SHOEN, A.M. Introduction to equine acupuncture: scientific basis and clinical applications. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTITIONERS, 1993, Lexington. Proceedings... p.29- 30. 1993

SKARDA, R. T., TEJWANI, G. A., MUIR, W. W. Cutaneous and visceral analgesic, Respiratory and cardiovascular effects of Acupuncture and electroacupuncture on Methionine-enkephalin and dynorphin (1-13) Immunoreactivity in equine plasma. In: 27th international congress on veterinary acupuncture, Ontário – Canadá. Proceedings. p. 23-44. 2001.

STEISS, J.E. The neurophysiologic basis of acupuncture. In: SHOEN, A.M. (Ed.) Veterinary acupuncture: ancient art to modern medicine. St. Louis: Mosby, 2001. p.27-46.

SULLIVAN, S.L., ANDRSON, G.A., MORLEY, P.S., HINCHCLIFF, K.W. Prospective study of the association between exercise-induced pulmonary haemorrhage and long-term performance in Thoroughbred racehorses. Equine Veterinary Journal, v.47, p.350-57, 2015a.

SULLIVAN, S.L., HINCHCLIFF, K.W. Update on Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage. Veterinary clinics of North America: Equine practice, v.3, p.187-198, 2015.

SULLIVAN, S.L., WHITTEN, T., MORLEY, P.S., HINCHCLIFF, K.W. A systematic review and meta-analysis of furosemide for exercise induced pulmonary haemorrhage in thoroughbred and standardbred racehorses. Equine Veterinary Journal, v.47, p.341-9, 2015b.

SUTHERLAND, E. Integration of Acupuncture and Manipulation into a Standard lameness Examination and Treatment Approach. In: AAEP Proceedings. v.43, p.319-321, 1997.

TAI, S., WANG, J., SUN, F., XUTIAN, S., WANG, T., KING, M. Effect of needlepuncture and electro-acupuncture on mucociliary clearance in anesthetized quails. BMC Complementar and Alternative Medicine. v.6, p.4, 2006.

TAKAHASHI, T.; HIRAGA, A.; OHMURA, H.; KAI, M.; JONES, J.H. Frequency of and risk factors for epistaxis associated with exercise-induced pulmonary hemorrhage in horse: 251, 606 race starts (1992 -1997). Journal of the American Veterinary Medical Association, v.128, p.215-218, 2001.

TANGJITJAROEN, W., SHMALBERG, J., COLAHAN, P. T., XIE, H. Equine Acupuncture Research: An Update. *Journal of Equine Veterinary Science*. v.29, n.9, p. 698-709, 2009.

WATSON, M. Furosemide. *Journal of Exotic Pet Medicine*. v. 20, n. 1, p.60-63, 2011.

WILSON, D.V., LANKENAU, C., BERNEY, C.E., PERONI, D.L., MULLINEAUX, D.R., ROBINSON, N.E. The effects of a single acupuncture treatment in horses with severe recurrent airway obstruction. *Equine Veterinary Journal*, v.36, n.6, p.489-494, 2004.

WYNN, S.G.; LUNA, S.P.L.; LIU, H.; XIE, H.; NAN, T.C.; CHIEN, C.H. Global acupuncture research: previously untranslated studies. Studies from Brazil. In: SCHOEN, A.M. (Ed.). *Veterinary acupuncture: ancient art to modern medicine*. St. Louis: Mosby, 2001. p. 53-7.

XIE, H.; ASQUITH, R.L.; KIVIPELTO, J. A review of the use of acupuncture for treatment of equine back pain. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.16, p.285-290, 1996.

CAPÍTULO 2 - Trabalhos científicos

1. Descrição de uma técnica para mensuração do débito urinário em equinos e o efeito da farmacopuntura com furosemide associada à acupuntura sobre este.

- Trabalho a ser enviado sob a forma de "Short communication" para a revista Journal of Equine Veterinary Science - Idioma Inglês.

<http://www.j-evs.com/content/authorinfo>

Description of a technique for measuring urinary output and effects of pharmacopuncture with furosemide combined to acupuncture in urinary output of horses

Pablo Costa Magalhães¹, Stelio Pacca Loureiro Luna¹, Gabriela Nascimento Dantas², Marcos Jun Watanabe¹

¹Department of Veterinary Surgery and Anesthesiology and ²Department of Veterinary Clinics, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, UNESP – Univ. Estadual Paulista, Distrito de Rubião Júnior, S/N, Botucatu/SP, Brasil, Caixa Postal 560, CEP: 18.618-970. SP, Brazil. E-mail:pablo@fmvz.unesp.br*, stelio@fmvz.unesp.br, gndantas@fmvz.unesp.br, watanabe@fmvz.unesp.br. *Corresponding author.

ABSTRACT

Furosemide is a diuretic commonly administered in horses. Pharmacopuncture may provide similar pharmacological effects and minimize the adverse ones. The aim of this study was to describe a technique for measuring urinary output and to evaluate the effect of pharmacopuncture with furosemide in urinary output in horses. Six male healthy gelding horses (9.1±2 years old; 337±39 kg) were used. One day before the study, plastic bags were positioned ventrally to the penis foreskin for collection of urine. Treatments were randomly performed within one-day interval: 250mg of IV furosemide (F); pharmacopuncture with 50mg of furosemide diluted with saline (1:1) and administered bilaterally in Bladder 23 acupoint, followed by acupuncture in other acupoints (PA); false pharmacopuncture injected in a false acupoint (Sham) and control (C). Time from treatment to first urination, urinary output, gravity and frequency were evaluated. Non parametric data were compared by Friedman test followed by Dunn's multiple comparison test and parametric data were evaluated by

ANOVA followed by Bonferroni test, considering $p < 0.05$ (Graphpad INSTAT). Urination started within 20 minutes after F and PA only. There was no difference in urinary output among F, PA and Sham, but urinary output was lower after C compared to F. There was no difference in density among groups. Urination was less frequent in C and Sham compared to F. We concluded that it is possible to collect urine in male horses using the described technique and that although urinary output after PA was intermediate between Sham and F, PA accelerated drug effect.

Keywords: Kidney; Medicine, Chinese Traditional; Diuresis; Equine

HIGHLIGHTS

- Pharmacopuncture accelerates the effect of furosemide
- Urinary output after PA was intermediate between Sham and F
- Pharmacopuncture did not increase urine output in horses as did furosemide

INTRODUCTION

Furosemide is a commonly used diuretic in horses to provide rapid and intense diuresis in clinical conditions such as congestive heart failure, ascites, acute renal failure, exercise-induced pulmonary hemorrhage and edema.

As a loop diuretic, it reduces the reabsorption of electrolytes, by blocking the sodium-potassium-chloride pumps at the ascending limb of Henle's loop in the nephron. By competitive binding to the Cl^- receptor of the $\text{Na}^+\text{K}^+2\text{Cl}^-$ luminal carrier, furosemide inhibits the reuptake of these ions from the tubular fluid [1]. Such loss of electrolytes drains free water to the interior of the tubules and increases diuresis.

The most common adverse effects produced by furosemide are dehydration, hypovolemia, metabolic alkalosis and electrolyte disturbances, like hypomagnesemia and hypokalemia [2].

Indiscriminate use of drugs can cause toxicity and adverse effects for animals. In order to overcome these problems, topical treatments and systemic medications have been replaced or associated with non-invasive techniques to treat several diseases. Such techniques include acupuncture, chiropractic, herbal medicine, and others [3,4].

Pharmacopuncture is an acupuncture technique used to minimize the adverse effects of drugs and their cost. This method combines the traditional stimulation of the acupoints with the local delivery of small doses of drugs, to potentiate the pharmacological effects [5]. This technique was used with the same efficacy than the full dose of acepromazine for sedation in horses [6] and prostaglandin for induction of luteolysis in mares [7].

Based on the hypothesis that PA provides a similar diuretic effect than furosemide, this study aimed to evaluate and compare the use of pharmacopuncture *versus* the conventional dose of IV furosemide to increase urinary output of horses.

MATERIAL AND METHODS

This study was approved by the Institutional Ethical Committee for the Use of Animals under the protocol 171/2014. Six male clinically healthy gelding mixed breed horses, aging between four and 12 years (9.1 ± 2 kg) and weighing between 290 and 390 kg (337 ± 39 kg) were used. Inclusion criteria were based on normal values of urea and creatinine.

The animals were maintained in individual boxes and fed with coast cross hay and water *ad libitum*. One day before the study, plastic bags were positioned ventrally to the penis foreskin for adaptation of animals and prevention of changes in urination behavior during the study. Bags were fixed to the dorsal region by nylon tapes (Figure 1).

The treatments were randomly performed within one day interval: 1) conventional treatment by injecting 250 mg of furosemide¹ IV (approximately 0,7 mg/Kg) (F); 2) pharmacopuncture (PA) by administering 1/5 of the dose of furosemide (50 mg) diluted with saline (1:1) bilaterally in Bladder 23 acupoint (1 mL of the final solution in each acupoint), followed by acupuncture with 21G hypodermic needles for 20 minutes in the acupoints Spleen 10, Governing vessel 7, Kidney 7, Bladder 13, 17, 20, 39 and 42 [8]; 3) false pharmacopuncture (Sham) by injecting 1/5 of the dose of furosemide (50 mg) diluted with saline (1:1) bilaterally at a false acupoint located on the gluteus

¹Furosemide: Diurax®. Agener União, Avenida do café, 277, São Paulo – SP, Brasil. CEP: 04311-000

muscle, in a line between the ileum wing and the ischium, at a distance of 10 cm from the ileum wing and 4) control (C) - no treatment. The following measurements were performed: time from the treatments until the first urination, urination volume, measured by a one-liter beaker, 24 hours urinary output, urine specific gravity² and urination frequency.

Since the variables urine volume and specific gravity did not show normal distribution, Friedman test was used to evaluate possible differences between the treatments followed by Dunn's multiple comparison test. The frequency of urination showed normal distribution and was analyzed by ANOVA followed by Bonferroni test with 95% confidence interval (Graphpad INSTAT).

RESULTS

All horses coped well with the plastic bags. The device was efficient in collecting urine without leaking, providing that the urine was removed after each urination.

Six (100%), five (83%), one (17%) and none animals treated with F, PA sham and control, respectively, urinated in the first 20 minutes. Urinary output was 2.3 times higher following F when compared to C ($p < 0.001$). Urinary output of PA and Sham was intermediate between F and C, but there were no differences between PA and the other groups (Table 1).

There were no differences for urine specific gravity among treatments. Urination was more frequent after F when compared to Sham and C ($p < 0.05$). PA showed intermediate values in urination frequency (Table 1).

DISCUSSION

Pharmacopuncture fastened time to first urination as did IV furosemide. Furosemide has a rapid onset of action and short duration. When administered IV, urination occurs in about 15 minutes, peaks in around 30 minutes and returns to normal within one to two hours. Alpha, beta and gamma half-lives after IV administration are 5.6, 22.3 and 158.5 minutes, respectively [1].

²Combur-test® strips. Roche Chemical and Pharmaceutical Products SA. Av. Engenheiro Billings, 1729, Jaguare, São Paulo – SP, Brasil. CEP: 05321-900

Considering that, in healthy animals, the clearance is 503 mL/kg/hour, the wash out period of one day was apparently sufficient to avoid cumulative effects.

Pharmacopuncture did not increase urinary output as did the conventional IV furosemide dose. One of the reasons to perform this study was that in earlier studies, PA by using one tenth of the dose of sedative [6] and hormone [7] in horses, was as effective as the conventional doses of these substances, when the same route was used, subcutaneous and intramuscular (IM), respectively.

Both the pharmacokinetics of the drug after PA and the local acupoint effect are unknown. Nevertheless PA, but not the injection of a sub-dose of furosemide in false acupoint, accelerated urination as did furosemide IV. Otherwise one possibility why PA did not increase urinary output as the conventional dose of furosemide would be because different routes of administration were used, i.e. IM and IV, respectively. However the effect of acupuncture itself in urinary output was negligible, as there was no evidence of an additional effect of acupuncture in relation to the suboptimal dose of furosemide outside the acupoint. Apparently the fraction of the drug applied IM was responsible for the small increase in urine production regardless the injected site.

The B23 acupoint is located on the *longissimus dorsi* muscle, lateral to the second lumbar intervertebral space, therefore PA was performed IM. Because of that, false PA (sham) has also been administered IM, but away of any known acupoint. Time to effect of IM furosemide is more prolonged than IV and half-life is much longer, therefore urinary flow is increased for up to eight hours [1].

The results here are different from previous ones in horses by using pharmacopuncture. A dose of 0.5 mg of prostaglandin (1/10 of the conventional dose) injected into the acupoint Baihui showed the same efficacy as the conventional dose (5mg), to induce luteolysis and reduce plasma concentration of progesterone [7] and administration of 1/10 of the dose of acepromazine (0.01 mg/kg) at the acupoint GV 1 induced the same degree of sedation as the conventional dose (0.1mg/kg) administered subcutaneously in horses [6].

In the present study, no differences were observed among treatments concerning the urine specific gravity, finding that was not expected, since the

use of furosemide changes the urinary concentration by causing a dilution of the urine and therefore a decrease of the specific gravity values [9].

A limitation of the study was that the bags may have inhibited the urinary behavior of the horses, however they were randomly assigned to the groups and the same horses were used in all groups.

CONCLUSIONS

We concluded that is possible to collect urine in male horses using the described technique and that although PA did not affect urinary output, it shortened the time to first urination as did the full IV dose of furosemide.

FUNDING SOURCE

This work was supported by the Sao Paulo Research Foundation (FAPESP) [grant number 2014/14976-2].

FIGURE LEGENDS

Figure 1- a) Plastic bags positioned ventrally to the penis foreskin and fixed to the dorsal region of the horse; b) Caudal view of the nylon tapes attached to the tail; c) Bag filled with urine (the urine is collected after opening the forceps at the bottom of the bag)

TABLES

Table 1-Mean and SD (range) of frequency of urination in 24 hours and median (range) of urinary output of horses treated with 250mg of IV furosemide (F); pharmacopuncture (PA) and false pharmacopuncture (Sham) with 50mg of furosemide (PA) and control (C).

Groups	Frequency of urination	Urinary output (L/ in 24 hours)
F	7,8±4,5 (3 - 16)	10 (7,6 - 14)
PA	5,7±3,2 (2 - 10)	6,2 (4,9 - 10)
Shan	4,2±1,5 (2 - 6)	6,6 (5,1 - 9,2)
C	3,8±2,1 (1 - 7)	4,6 (2,6 – 7,1)

FIGURES (a ser enviado em arquivo separado)



REFERENCES

- 1- Hinchcliff KW, Muir WW. Pharmacology of furosemide in the horse: a review. *J vet inter med* 1991; 5; 211-18.
- 2- Johansson AM, Gardner SY, Levine JF, Papich MG, Lafevers DH, Fuquay LR, Reagan VH, Atkins CE. Furosemide continuous rate infusion in the horse: evaluation of enhanced efficacy and reduced side effects. *J Vet Intern Med* 2003;17; 887–895
- 3- Luckenbill B. Introduction to equine acupuncture. In: *Proceedings of the North American Veterinary Conference 2006*; 20; 143-5, Orlando, Flórida.
- 4- Shmalberg J, Xie H. The clinical application of equine acupuncture. *J Equine Vet Sci* 2009; 29; 645-52.
- 5- Wynn SG, Luna SPL, Liu H, Xie H, Nan TC, Chien CH. Global acupuncture research: previously untranslated studies. Studies from Brazil. In: Schoen AM, editor. *Veterinary acupuncture: ancient art to modern medicine*. St. Louis: Mosby; 2001; 53-57.

- 6- Luna SPL, Angeli AL, Ferreira CL, Lettry V, Scognamillo Szabó M. Comparison of pharmacopuncture, aquapuncture and acepromazine for sedation of horses. *Ev-Based Comp Alt Med*; 2006.
- 7- Alvarenga MA, Ferreira JEP, Meira C, Luna SPL, Burns P J. Induction of luteolysis in mares utilizing a micro-dose of prostaglandin in the sacral lumbar space (Bai Hui accupoint). *J Equine Vet Sci* 1988; 18; 167-8.
- 8- Xie H. & Preast P. *Xie's Veterinary Acupuncture*, 1st Ed., Blackwell Publishing, Iowa, 2007, 359p.
- 9- Cohen ND, Peck KE, Smith SA, Ray AC. Values of urine specific gravity for Thoroughbred horses treated with furosemide prior to racing compared with untreated horses. *J Vet Diagn Invest* 2002; 14; 231–235

2. Utilização da acupuntura para prevenção da Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício em cavalos Puro Sangue Inglês de corrida

- Trabalho a ser enviado para a revista Equine Veterinary Journal - A ser traduzido para o idioma Inglês.

Pablo Costa Magalhães¹, Stelio P. L. Luna¹, Marcos Jun Watanabe¹, Maurício Orlando Wilmsen², Mário José Lopes Espinho Filho³, Tiago Rafael Miglio Carvalho³

¹Departamento de Cirurgia e anestesiologia veterinária e ²Departamento de clínica veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista(UNESP) - Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, S/N, Botucatu/SP, Brasil, Caixa Postal 560, CEP: 18.618-970. ³Jockey Club Brasileiro, Praça Santos Dumont, 31 - Gávea, Rio de Janeiro - RJ, 22470-060. Corresponding author: pablo@fmvz.unesp.br

The authors have declared no competing interests.

Source of funding: São Paulo Research Foundation (FAPESP) [grant number 2014/14976-2].

RESUMO

O turfe incentiva e promove corridas de cavalos, regidas em cada país, pelo seu Código Nacional de Corridas. A raça Puro Sangue Inglês (PSI) domina essa atividade, sendo relevante a ocorrência de Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício (HPIE), com prevalência de até 95%, gerando perdas econômicas severas. A furosemida é o fármaco mais utilizado no tratamento apesar de seus efeitos adversos e de muitos países não o permitirem. Nesse aspecto a acupuntura se mostra uma alternativa terapêutica para esses animais. Objetivou-se, com o presente estudo, comparar os efeitos de uma sessão de acupuntura aos efeitos da aplicação intravenosa de furosemida na prevenção da HPIE em cavalos PSI.

Foram utilizados 18 equinos PSI. Cada animal foi seu próprio controle, sendo submetido a exercício intenso três vezes, sendo a primeira sem nenhum tratamento (C) e as outras duas, uma após receber 250 mg de furosemida IV (F) e outra após uma sessão de acupuntura (A), ambas quatro horas antes do exercício. Um intervalo de pelo menos 15 dias foi respeitado entre um

tratamento e outro. Os animais foram avaliados antes e após o exercício sendo realizada a avaliação clínica dos parâmetros vitais e do sistema respiratório, exame endoscópico do trato respiratório e coleta de sangue para mensuração de volume globular e proteína total.

O grau de sangramento teve mediana igual a 3 no controle, sem diferença estatística ($P > 0,05$) para o tratamento com acupuntura que teve mediana igual a 2,5. O tratamento com furosemida diferiu dos demais ($P < 0,001$) apresentando mediana 0,5 para tal variável. Quanto ao exame clínico dos parâmetros vitais e do sistema respiratório, a maioria das variáveis apresentou diferença estatística entre os momentos pré e pós, independente do tratamento avaliado, sem apresentar, entretanto, diferenças entre os tratamentos em um mesmo momento. O VG médio foi mais elevado para o tratamento com furosemida em relação aos demais nos momentos pré e pós exercício. Os valores obtidos de PT diferiram entre os momentos pré e pós, entretanto sem diferir entre os tratamentos avaliados.

Concluimos que apenas uma sessão de acupuntura aplicada quatro horas antes da realização de exercício em cavalos Puro Sangue Inglês de corrida não é capaz de reduzir o grau de sangramento decorrente da HPIE. Novas avaliações com tratamentos contínuos e prolongados devem ser feitas para se inferir melhor a respeito da eficácia da técnica.

Palavras chave: acupuntura, HPIE, furosemida, equinos

INTRODUÇÃO

O turfe, esporte de origem britânica iniciado por volta do século XVII, incentiva e promove corridas de cavalos, regidas em cada país, pelo seu Código Nacional de Corridas. A raça Puro Sangue Inglês (PSI) domina essa atividade pela sua aptidão para velocidade e explosão. Entretanto enfermidades, principalmente aquelas com acometimento cardiorrespiratório, podem comprometer esse desempenho.

No cenário das corridas, a Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício (HPIE) apresenta extrema relevância, sendo razão de perdas econômicas relevantes. Aparentemente a enfermidade acomete todos os cavalos de corrida

em graus variados [1]. Apesar das estimativas de prevalência variarem a depender da amostra de cavalos e critérios de avaliação, a afecção pode ser diagnosticada por exame endoscópico em 43 a 75% dos cavalos PSI após uma única corrida. Essa porcentagem pode aumentar para mais de 95% após avaliação de um número maior de corridas [2].

Não estava comprovado o comprometimento desportivo causado pela HPIE, até que um estudo mostrou que cavalos de corrida com grau um da enfermidade apresentaram quatro vezes maior possibilidade de vencer as provas, em relação a animais com grau mais elevados. As perdas econômicas no tratamento e manejo da enfermidade são significativas em todo o mundo e estima-se um gasto anual nos Estados Unidos de US\$ 250 milhões [3].

Quanto à etiologia, a teoria mais difundida é que o aumento extremo na pressão sanguínea durante o exercício facilita a passagem do sangue através da membrana alvéolo-capilar [4]. Pode ainda haver ruptura alveolar e extravasamento de sangue para a árvore traqueobrônquica [5]. Outras possíveis causas de HPIE seriam obstrução do trato respiratório superior, hiperviscosidade sanguínea induzida pelo exercício, estresse mecânico da locomoção [6] e inflamação das vias aéreas inferiores [2].

Uma vez que a etiologia da HPIE ainda é incerta, utilizam-se várias terapias para tratá-la, como broncodilatadores, antifibrinolíticos, dilatadores nasais, diuréticos, reológicos, agentes pró-coagulantes, mas nenhuma totalmente eficaz para reduzir ou eliminar o problema [4]. A maioria dos tratamentos elege uma das prováveis etiologias da enfermidade a ser controlada e visa reduzir o grau de sangramento ou diminuir as sequelas. A furosemida é o fármaco mais utilizado, apesar de não regulamentado nos códigos de corridas de muitos países [5].

A furosemida é um diurético de alça que apresenta início de ação rápido e curta duração [7]. Não está claro o mecanismo pelo qual a furosemida previne a HPIE. Especula-se que a diminuição no volume de água e fluido intravascular atenua a hipertensão arterial pulmonar tipicamente associada ao exercício e reduza a incidência da ruptura capilar alveolar e a hemorragia [8].

Apesar dos efeitos desejáveis na prevenção da HPIE, os efeitos adversos associados ao tratamento com furosemida são importantes. Por afetar a absorção de eletrólitos, o fármaco pode induzir anormalidades no

equilíbrio hidro-eletrolítico e causar desidratação rápida e intensa, que predispõe à síndrome de exaustão e cólica nos equinos.

Nesse aspecto, acupuntura, eletroacupuntura e ervas chinesas podem ser boas alternativas no tratamento de animais que sofrem de doenças respiratórias crônicas [9]. A acupuntura pode melhorar a função pulmonar de cavalos por atuar sobre atividade neural simpática e liberar opióides e catecolaminas, que produzem broncodilatação e inibir a liberação de acetilcolina dos nervos parassimpáticos [10].

Com o intuito de evitar o uso excessivo da furosemida e seus efeitos adversos, objetivou-se comparar os efeitos de uma sessão de acupuntura aos efeitos da aplicação intravenosa de furosemida na prevenção da HPIE em cavalos PSI.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela comissão de ética no uso de animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, campus de Botucatu, sob o protocolo 171/2014.

Seleção dos animais e tratamentos

Foram utilizados 18 equinos atletas da raça Puro Sangue Inglês com idade entre três e nove anos ($\bar{x} = 4,6 \pm 1,5$), peso entre 422 e 583 kg ($\bar{x} = 480 \pm 44$), em campanha no Jockey Clube Brasileiro (JCB). Dos 18 animais cinco eram fêmeas, 10 machos inteiros e três machos castrados. Os animais eram treinados para distâncias de 600 a 1.400 m. Cada animal foi seu próprio controle, submetendo-se à repetição dos testes após os diferentes tratamentos ou controle.

Cada animal foi submetido a exercício intenso três vezes, a primeira sem nenhum tratamento e as outras duas, uma após receber a dose total da furosemida¹ (250 mg ou aproximadamente 0,5 mg/Kg) IV quatro horas antes do exercício e outra após uma sessão de acupuntura com agulhas hipodérmicas 21G também quatro horas antes do exercício. Os acupontos utilizados foram:

Pulmão 1, 5 e 11; Intestino Grosso 11 e 20; Bexiga 13, 14, 17, 20, 23, 42 e 43; Vaso Governador 7; Baço-Pâncreas 10 e Rim 7, de acordo com suas indicações na medicina tradicional oriental e localização descrita na literatura [11]. As agulhas foram mantidas no corpo do animal por 20 minutos. As duas últimas etapas se distribuíram de maneira aleatória aos animais nos dias de experimento. Um intervalo de pelo menos 15 dias foi respeitado entre a execução de uma avaliação e outra no mesmo animal e nenhuma medicação além da estudada foi administrada no período do experimento.

Durante o estudo manteve-se o manejo habitual de estabulação, alimentação, rotina de trabalho, casqueamento e ferrageamento do JCB.

Simulação das corridas

A simulação das corridas obedeceu ao Código Nacional de Corridas, de forma similar ao que ocorre no JCB em dias de aposta. Os animais utilizaram a mesma sela e adereços de uma corrida habitual, assim como foram montados pelo mesmo jockey nas três repetições, para evitar variações de intensidade no exercício e peso carregado. A mesma distância foi percorrida na mesma pista durante as três simulações. O tempo de percurso foi tomado a partir de um cronômetro acoplado ao pulso do jockey e iniciado e interrompido por este durante o trabalho. A velocidade média foi calculada pela razão entre distância percorrida e tempo. A temperatura ambiente foi aferida por um termômetro digital.

Ao final do percurso os jockeys montados se dirigiram ao pátio do VETCORR (Departamento responsável pelas corridas do JCB) onde deixaram os animais para que fossem avaliados.

Avaliação dos animais

Os animais foram avaliados em três momentos, da seguinte maneira:

- Momento 0 (M0): 30 minutos antes do exercício
- Momento 1 (M1): imediatamente após o exercício
- Momento 2 (M2): 30 minutos após o exercício

Em M0 e M1 foi realizada a avaliação clínica dos parâmetros vitais e do sistema respiratório e colheita de sangue para mensuração de volume globular e proteína total, e em M0 e M2, exame endoscópico do trato respiratório superior. As avaliações se deram conforme descrito a seguir.

Avaliação endoscópica do trato respiratório

A avaliação se baseou na metodologia descrita na literatura [12]. Realizou-se o exame com um colonofibroscópio, acoplado a uma câmera capaz de capturar as imagens e transmiti-las a um computador para gravação. Todas as endoscopias foram digitalizadas, armazenadas e analisadas posteriormente pelo mesmo examinador, para todos os animais, em todas as repetições do experimento, sem que este soubesse do tratamento em questão.

Para realizar a endoscopia, após contenção física, o endoscópio foi introduzido pelo meato nasal ventral da narina direita ou esquerda, aleatoriamente. Foram analisadas as estruturas anatômicas desde os meatos nasais até a bifurcação brônquica (carina). A avaliação semi-quantitativa para a presença de sangue foi realizada segundo a literatura [13] conforme descrito a seguir: Grau 0 – nenhum sangue aparente na traquéia; Grau 1 – Traços de sangue na traquéia; Grau 2 – Presença de filete de sangue na traquéia; Grau 3 – Presença de sangue na traquéia em quantidade superior ao grau anterior; Grau 4 – Presença abundante com acúmulo de sangue na traquéia e Grau 5 – Hemorragia nasal ou presença de sangue abundante e acumulado na traquéia até a orofaringe;

Avaliação clínica dos parâmetros vitais e do sistema respiratório

O médico veterinário avaliador dos parâmetros vitais e do sistema respiratório foi o mesmo para todos os animais, em todas as repetições do experimento e não era ciente do tratamento administrado ao animal (estudo encoberto/cego).

A avaliação dos parâmetros vitais se deu pela auscultação das frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR), aferição da temperatura retal

(TR), inspeção visual da coloração da mucosa oral e tempo de preenchimento capilar (TPC).

A avaliação específica do sistema respiratório se iniciou pela inspeção, averiguando-se o modo da atividade respiratória (eupnéia ou dispnéia), o tipo (costal, costo-abdominal ou abdominal), a amplitude (normal, superficial ou profunda) a coloração da mucosa nasal e presença de secreções nas narinas, e ainda a presença ou ausência do reflexo de tosse. Em seguida realizou-se ausculta dos campos laringo-traqueal, traqueo-bronquico e brônquio-bronquiolar para averiguar a presença ou não de ruídos patológicos [14]. Os exames foram registrados em fichas conforme modelo do Anexo IV.

Quantificação do volume globular (VG) e proteínas plasmáticas totais (PT)

Amostras de sangue foram colhidas nos momentos previamente estipulados. As amostras foram obtidas a partir de punção da veia jugular esquerda ou direita, aleatoriamente, em tubos com anticoagulante (EDTA). Após homogeneização procedeu-se a aferição do VG e PT conforme metodologia preconizada na literatura corrente [15]. Preencheu-se no mínimo 70% do tubo de micro-hematócrito e vedou-se a extremidade com selante apropriado. Colocou-se os tubos numa micro-centrífuga³ a 11.500 RPM por cinco minutos. A porcentagem de hemácias foi aferida com auxílio de uma tabela graduada para hematócrito. Em seguida, utilizou-se a coluna de plasma sobrenadante do tubo de micro-hematócrito para a aferição de PT com o auxílio de um refratômetro⁴.

Análise estatística

Considerando o grau de sangramento para comparar os tratamentos, em cada momento, foi realizado o Teste de Friedman de Medidas Repetidas ($P < 0,05$) e para comparação, em cada tratamento, dos momentos pré e pós

³MICRO HEMATÓCRITO - MH, CELM " Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos". Av. Guido Aliberti, 5129 – Bairro Mauá – São Caetano do Sul / SP CEP: 09580-400

⁴Refratômetro Manual 0 a 32% Brix c/ Compensação Automática Mod. 103 - Biobrix

exercício, foi realizado o teste não paramétrico de Wilcoxon ($P < 0,05$). Quando significativo foi realizado o Teste de Tukey ($P < 0,05$) para comparação das médias.

Foi realizado o teste de Correlação de Pearson ($P < 0,05$) para verificar a associação da variável grau de sangramento em relação à distância, temperatura ambiente, umidade relativa do ar e velocidade média.

Para as variáveis do exame clínico dos parâmetros vitais FC, FR e TR, dentro dos momentos, para comparação entre os tratamentos foi realizada análise de variância. Em cada tratamento, para comparação de pré e pós, foi usado o teste t de Student, ambos adotando o grau de significância $P < 0,05$. Para o TPC, dentro dos momentos para comparação dos tratamentos, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis. Dentro de cada tratamento, para comparação de pré e pós, foi usado o teste de Wilcoxon, ambos adotando o grau de significância $P < 0,05$.

Na comparação das variáveis do sistema respiratório, foi realizado o teste qui-quadrado para comparação das proporções com nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

Considerando os parâmetros volume globular (VG), proteína total (PT) e velocidade para comparação dos tratamentos, em cada momento, foi realizada a Análise de Variância de Medidas Repetidas ($P < 0,05$) e para comparação, em cada tratamento, dos momentos pré e pós exercício, foi realizado o teste t pareado ($P < 0,05$).

RESULTADOS

A distância percorrida pelos animais no experimento variou de 600 a 1.400 metros, conforme distribuição demonstrada na figura 1.

O tempo foi de 34 a 107,68 segundos, sendo correspondidos os menores tempos às menores distâncias. A comparação das velocidades médias encontra-se expressa na tabela 1.

A temperatura ambiente variou de 21,6°C a 33,2°C ($\bar{x} = 27,0 \pm 3,4^\circ\text{C}$) nos dias de avaliação do experimento.

Quanto à ocorrência de HPIE durante as avaliações, houve diferença ($P=0,0003$) entre o controle e os dois tratamentos avaliados. Quando não receberam nenhum tratamento (controle), todos os animais apresentaram hemorragia pulmonar após o exercício. Após tratados com furosemida, nove animais (50%) ainda apresentaram sangramento e após tratamento com acupuntura 14 animais (77,8%) ainda sangraram. A comparação do grau de sangramento entre os tratamentos encontra-se na tabela 2.

Não houve correlação significativa para as comparações grau de sangramento x temperatura ambiente ($r=-0,138$ $P=0,32$) e grau de sangramento x distância ($r=-0,07$ $P=0,59$). Para a comparação grau de sangramento x velocidade houve correlação significativa inversa ($r=-0,394$ $P=0,003$).

Quanto ao exame clínico dos parâmetros vitais, para as variáveis FC, FR, TPC e TR, houve diferença estatística entre os momentos pré e pós, independente do tratamento avaliado, porém não houve diferenças entre os tratamentos em um mesmo momento. Os resultados encontram-se nas tabelas 3, 4, 5 e 6 respectivamente. Verificou-se diferença estatística em relação à coloração da mucosa oral comparando os momentos pré e pós exercício ($P<0,05$). Nas avaliações pré, em torno de 90% dos animais apresentaram mucosas normocoradas e nas avaliações pós essa porcentagem foi de mucosas hipercoreadas. Não houve diferença estatística entre os tratamentos.

À inspeção do sistema respiratório, os parâmetros modo da respiração (eupnéia ou dispnéia) amplitude (normal, superficial ou profunda) e coloração de mucosa nasal, se mostraram diferentes ($P<0,05$) entre os momentos pré e pós exercício, sem diferir entre os tratamentos avaliados. O modo variou de eupnéia no momento pré para dispnéia no pós, enquanto a amplitude variou de normal para superficial ou profunda no pós. A figura 2 ilustra a distribuição da variável amplitude entre os momentos e tratamentos avaliados. A coloração de mucosa foi normocorada no momento pré e predominantemente hipercoreada no pós.

Independente do momento ou do tratamento avaliado, a maioria dos animais apresentou o tipo de respiração costo-abdominal ($P=0,483$) e ausência de tosse e secreção nasal ($P=0,1788$) (Figura 3). Dos 25% de animais que apresentaram tosse no momento pós exercício cinco foram no controle, quatro

na furosemida e quatro na acupuntura, porém não houve diferença estatística entre essas porcentagens ($P=0,0721$). O tipo de secreção nasal encontrada no momento pré foi serosa, enquanto no momento pós a distribuição se deu da seguinte maneira: no controle quatro animais com secreção sanguinolenta e dois com mucosa; na furosemida um serosa e um sanguinolenta e na acupuntura, dois animais com secreção sanguinolenta.

Durante a ausculta traqueal e pulmonar, nenhum dos animais apresentou ruídos patológicos, independente do tratamento avaliado no momento pré exercício. Nos tratamentos pós exercício, para o controle e a furosemida, 77,8% e 50%, respectivamente, dos animais passaram a apresentar ruído traqueal patológico diferindo do momento que antecedeu os exercício ($P<0,01$). Considerando o tratamento com acupuntura, 38,9% dos animais passaram a apresentar ruído traqueal patológico, diferindo estatisticamente do momento pré ($P=0,028$). Entre os tratamentos no momento pós houve também diferença ($P=0,007$), sendo a acupuntura o tratamento com melhor efeito sobre a diminuição de ruídos traqueais (Figura 4).

Nos tratamentos pós exercício, durante ausculta pulmonar, 33,3% dos animais passaram a apresentar algum tipo de ruído patológico no controle, diferindo do momento pré exercício ($P=0,0124$). Quando tratados com furosemida e acupuntura, 16,7 e 11,1%, respectivamente, dos animais passaram a apresentar ruído patológico, porém não houve diferença estatística do momento pré ($P>0,05$). Entre os tratamentos, no momento pós, houve também diferença ($P=0,0014$), sendo novamente a acupuntura o tratamento com melhor efeito sobre a diminuição de ruídos pulmonares (Figura 5).

Por fim, as comparações entre as variáveis VG e PT encontram-se expressas nas tabelas 7 e 8.

DISCUSSÃO

A variação da distância percorrida pelos animais se deu de acordo com a aptidão e treinamento de cada indivíduo. Apesar dessa diferença, foi possível comparar os tratamentos, visto que cada animal foi seu próprio controle e percorreu a mesma distância nas três avaliações. Como esperado, distâncias menores resultaram em tempos menores de percurso. A razão dessas duas

variáveis resultou em velocidades médias que não diferiram entre os tratamentos, independente do grau de sangramento observado após cada avaliação. Seria esperado que animais com graus mais elevados de sangramento apresentassem velocidades inferiores, visto que a HPIE compromete o desempenho esportivo dos animais, reduz as chances de vitória durante as provas e por consequência o ganho de prêmios em corridas [3, 16, 17].

Ainda era esperado que os tratamentos com furosemida ou acupuntura melhorassem a performance dos animais e aumentassem sua velocidade média durante o percurso, quando comparados à avaliação do controle. Tal expectativa se embasa no fato de que a furosemida, além de seus mecanismos de prevenção da HPIE, causa rápida e intensa desidratação, reduz o peso corporal dos animais medicados antes das provas, o que os favorece atingir velocidades mais elevadas [8]. Por outro lado a acupuntura, melhora a performance atlética em cavalos [18], tanto para o índice V4 como para o número de vitórias de cavalos PSI após tratamento com aquapuntura, comparado a animais não tratados ou tratados em pontos falsos [19]. Diferente do esperado, ao se avaliar apenas o parâmetro velocidade média para inferir sobre a performance dos animais, o presente estudo não apresentou diferenças entre o tratamento com furosemida ou com acupuntura em relação ao controle. Outras variáveis, que não a velocidade média deveriam ser avaliadas o desempenho atlético, o que foge do escopo deste estudo.

A furosemida, mas não a acupuntura, reduziu o grau de sangramento nos cavalos acometidos por HPIE. Apesar de existirem conflitos quando se avalia a eficácia da furosemida em prevenir a HPIE, isso se deve a falhas na metodologia de avaliação ou nas análises estatísticas. Atualmente inúmeros estudos aleatórios, cegos, com controle placebo, realizados sob condições de corridas mostram que a furosemida reduz o grau de sangramento pulmonar [2]. Uma meta-análise em 5.653 cavalos acometidos por HPIE mostrou que a furosemida foi eficaz na redução do grau de sangramento quando aplicada antes da corrida em cavalos Standardbred e Puro Sangue Inglês [20], o que está de acordo com nosso estudo.

Quando se trata especificamente do sistema respiratório, animais tratados de maneira convencional e com remissão dos sinais clínicos nem

sempre estão completamente curados, visto que a reintrodução do fator predisponente pode colaborar para o ressurgimento dos sinais. Nesse aspecto, a acupuntura, eletroacupuntura e ervas chinesas têm se mostrado como adjuvantes no tratamento desses animais, melhorando a qualidade de vida daqueles que sofrem de doenças respiratórias crônicas [9]. Na HPIE, o tratamento com a furosemida é apenas paliativo, sendo necessário o uso constante do fármaco para prevenir ou reduzir o grau de sangramento nos animais. Tendo isso em vista, verificamos se uma sessão de acupuntura realizada quatro horas antes da corrida, de maneira similar ao tratamento com furosemida, seria capaz de evitar ou reduzir o grau de sangramento em cavalos acometidos por HPIE.

A acupuntura e eletroacupuntura induzem broncodilatação moderada. A melhora em parâmetros da função pulmonar (pressão pleural, volume corrente, ventilação por minuto e picos de fluxos inspiratório e expiratório) foi reportada em cavalos acometidos por obstrução recorrente das vias aéreas, apesar de os aumentos não serem estatisticamente significativos [10] e não haver diferença entre acupuntura e grupo controle em cavalos com esta patologia. Entretanto da mesma maneira que em nosso estudo, o tratamento se deu em apenas uma sessão. Por se tratarem de enfermidades crônicas e de difícil abordagem terapêutica, sugere-se que um tratamento prolongado e contínuo pudesse, talvez, ser mais eficaz do que apenas uma única sessão. Desta forma aparentemente tratamentos contínuos são necessários para se observar uma resposta clínica em casos de enfermidades crônicas [21]. Em seres humanos tratamentos consecutivos em casos de doença pulmonar obstrutiva crônica contribuíram substancialmente para diminuir os escores de dispnéia [22]. Dado à complexidade das enfermidades do trato respiratório, pesquisas adicionais são necessárias para se estabelecer um protocolo de pontos e o número recomendado de tratamentos. Normalmente pelo menos três sessões devem ser realizadas e o tratamento médico convencional não deve ser abandonado. Nesse aspecto, encoraja-se a realização de estudos em que um número maior de tratamentos seja realizado na tentativa de prevenir a HPIE em cavalos PSI sangradores.

Apesar de tais constatações, há relato de sucesso na utilização da acupuntura em casos emergenciais de asfixia neonatal em potros [23]. Em sua

prática clínica resultados imediatos são obtidos no combate ao broncoespasmo com apenas uma sessão, provavelmente por se tratar de casos agudos. Fica evidente, portanto, a necessidade de adequar a técnica à enfermidade a ser tratada.

Não houve correlação entre o grau de sangramento e distância percorrida, o que diverge da literatura que afirma que a HPIE varia de acordo com distância percorrida, tipo e intensidade de corrida, onde as distâncias menores são as que mais causam HPIE [24]. Também não demonstramos correlação entre as variáveis temperatura ambiente e grau de sangramento, sugerindo que a intensidade da HPIE seja mais dependente da predisposição individual do que de fatores ambientais e relacionados ao tipo de exercício. De maneira contrária a esse resultado, a literatura diz que a temperatura ambiente, quando elevada, pode exacerbar a desidratação do animal, o que aumenta ainda mais a pressão sanguínea, pelo aumento compensatório do débito cardíaco. O aumento extremo na pressão sanguínea durante o exercício facilita a passagem do sangue através da membrana alvéolo-capilar [4]. Pode ainda haver ruptura alveolar e extravasamento de sangue para a árvore traqueobrônquica [5].

Ao se avaliar a intensidade do exercício a partir do parâmetro velocidade média atingida, vai além do escopo de nosso estudo explicar a correlação significativa inversa observada entre tal variável e o grau de sangramento, visto que o esperado seria a ocorrência de graus mais elevados em animais que atingissem maiores velocidades. Apesar disso, a avaliação de parâmetros específicos para avaliação de desempenho atlético talvez pudesse elucidar com mais clareza a relação entre intensidade de exercício e grau de sangramento.

A elevação da frequência cardíaca no momento pós exercício em relação ao pré se deu sem nenhuma influência dos tratamentos avaliados sobre essa variável. Essa alteração é obviamente esperada durante o exercício a fim de se restabelecer fisiologicamente os parâmetros e suprir a demanda de oxigênio em todo o corpo do animal. Em acordo com tal achado, autores citam adaptações em cavalos atletas durante o exercício como o aumento da taxa metabólica; taquicardia e elevação do débito cardíaco e da pressão arterial média (até 120 mmHg); vasodilatação na musculatura ativa e aumento do fluxo

sanguíneo para pele, com dilatação dos vasos, a fim de facilitar a perda de calor [25]. O aumento da pressão sanguínea e redistribuição do fluxo para a circulação periférica acarreta hipercoloração das mucosas aparentes, também evidenciada em nosso estudo após realização de exercício intenso, independentemente do tratamento avaliado. Associada à hipercoloração, a desidratação que ocorre durante o exercício aumenta o tempo de preenchimento capilar, reflexo da hipovolemia gerada. Todos esses achados são eventos fisiológicos esperados, mas não houve nenhuma interferência dos tratamentos sobre tais parâmetros. A elevação da temperatura corporal em todos os grupos se relaciona a maior taxa de produção de calor no músculo que a taxa de dissipação durante o exercício. Esta pode aumentar até 1°C por minuto no início de um exercício extenuante. Temperaturas musculares de 45°C já foram reportadas em cavalos em exercício [26].

Os ruídos patológicos pulmonares ocorreram em ordem decrescente no grupo controle, furosemida e acupuntura. A secreção no lúmen de vias aéreas, turbilhonada com a passagem de ar durante a respiração acarreta na produção de som a quantidade de secreção acumulada. A acupuntura melhora a função respiratória de cavalos por atuar sobre atividade neural simpática e liberar opióides e catecolaminas, que produzem broncodilatação, e por inibir a liberação de acetilcolina dos nervos parassimpáticos, que causam broncoconstrição [10]. Esse aumento do lúmen facilita a passagem do ar, reduz o turbilhonamento de secreções e torna os ruídos menos audíveis nos animais tratados com acupuntura.

Na avaliação pós exercício a furosemida foi o tratamento que mais provocou desidratação, e a acupuntura pareceu diminuir essa consequência, por apresentar valores de VG inferiores ao controle, que foi intermediário aos dois tratamentos, apesar de não haver diferença estatística. O VG varia de acordo com o volume plasmático e é uma boa variável hematológica para avaliar o grau de hidratação do animal [15]. Nosso estudo evidencia a desidratação causada pela aplicação IV da furosemida pela diferença da variável observada entre os tratamentos na avaliação pré exercício. A furosemida é um diurético de alça que apresenta início de ação rápido e curta duração [7]. Essa é uma grave consequência da utilização do fármaco, visto que os animais já vão para a prova com elevada desidratação. Quando

somada à desidratação esperada a partir do exercício, tal efeito se exacerba, o que predispões o animal à síndromes como a exaustão, comum em cavalos PSI de corrida, e a cólica.

Por meio de seus efeitos neuroendócrinos e regulação homeostática, a acupuntura modula a coagulação sanguínea [27, 28]. Aparentemente a acupuntura também atuou sobre a homeostase hídrica dos animais tratados e pode ter minimizado a desidratação consequente do exercício. Essa vantagem da acupuntura pode torná-la uma boa opção de tratamento complementar à furosemida.

Apesar de também ser uma variável que avalia a hidratação do animal e apresentar a mesma tendência do VG, a concentração das proteínas plasmáticas totais não evidenciou a desidratação causada pela furosemida no momento pré exercício como aconteceu com o VG. Os valores de PT ressaltam a desidratação gerada pela perda de água decorrente do exercício, independente do tratamento realizado.

Um aspecto importante é o tempo entre os tratamentos avaliados. Este deve ser suficiente para que não haja nenhum resíduo do tratamento anterior no momento da avaliação de um segundo tratamento. Para tal utilizou-se um intervalo igual ou superior a 15 dias entre tratamentos, para a completa eliminação da furosemida do organismo e fim dos efeitos da acupuntura. A furosemida IV apresenta as meias vidas alfa, beta e gama de 5,6, 22,3 e 158,5 minutos respectivamente e seu o índice de eliminação em animais saudáveis é de 503 ml/Kg/hora [7]. Por outro lado os efeitos mediados pela acupuntura aparentemente duram de cinco a sete dias [29].

CONCLUSÕES

Conclui-se que apenas uma sessão de acupuntura aplicada quatro horas antes do exercício em cavalos Puro Sangue Inglês de corrida não reduz o grau de sangramento decorrente da HPIE. Novos estudos com tratamentos contínuos e prolongados poderiam esclarecer se a acupuntura seria benéfica nessas circunstâncias. A furosemida ainda parece ser o tratamento paliativo mais eficaz para HPIE, apesar dos efeitos adversos e da discrepância entre países que regulamentam ou não o seu uso nos cavalos antes das provas.

LEGENDAS DE FIGURAS

1. Figura 1 - Gráfico de pizza ilustrando a porcentagem (%) de animais que percorreram cada distância
2. Figura 2 - Gráfico de barras enumerando animais com diferentes amplitudes de respiração nos tratamentos e diferentes momentos antes e após o exercício em cavalos PSI portadores de HPIE não tratados (controle) ou tratados com furosemida ou acupuntura (n=18).
3. Figura 3 - Gráfico de barras enumerando animais com secreção nasal nos tratamentos e diferentes momentos antes e após o exercício em cavalos PSI portadores de HPIE não tratados (controle) ou tratados com furosemida ou acupuntura (n=18).
4. Figura 4 - Gráfico de barras enumerando animais com ruído à ausculta traqueal nos tratamentos e diferentes momentos antes e após o exercício em cavalos PSI portadores de HPIE não tratados (controle) ou tratados com furosemida ou acupuntura (n=18).
5. Figura 5 - Gráfico de barras enumerando animais com ruído à ausculta pulmonar nos tratamentos e diferentes momentos antes e após o exercício em cavalos PSI portadores de HPIE não tratados (controle) ou tratados com furosemida ou acupuntura (n=18).

TABELAS

Tabela 1 - Média e desvio-padrão da velocidade média (m/s) durante exercício em cavalos PSI portadores de HPIE não tratados (controle) ou tratados com furosemida ou acupuntura (n=18)

Tratamento	Momento da avaliação
	Pós
Controle	15,39 ± 2,25
Furosemida	15,86 ± 2,40
Acupuntura	15,25 ± 2,20
P	0,07

Tabela 2 - Medianas e percentis 25 e 75% do grau de sangramento antes e após o exercício em cavalos PSI portadores de HPIE não tratados (controle) ou tratados com furosemida ou acupuntura (n=18)

Tratamento	Momento da avaliação		P
	Pré	Pós	
Controle	0 [0 – 0] aB	3,0 [1 – 4] aA	<0,001
Furosemida	0 [0 – 0] aB	0,5 [0 – 2] bA	0,004
Acupuntura	0 [0 – 0] aB	2,5 [1 – 4] aA	<0,001
P	1,000	<0,001	

Medianas seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Turkey (P<0,05).

Tabela 3 - Média e desvio padrão da FC antes e após o exercício em cavalos PSI portadores de HPIE não tratados (controle) ou tratados com furosemida ou acupuntura (n=18)

Tratamento	Momento da avaliação		P
	Pré	Pós	
Controle	35,6 ± 6,7aA	99,6 ± 13,4aB	<0,001
Furosemida	38,7 ± 11,2aA	101,4 ± 14,0aB	<0,001
Acupuntura	37,3 ± 7,9aA	107,1 ± 13,0aB	<0,001
P	0,572	0,227	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferiram estatisticamente entre si pela análise de variância e teste de t student (P<0,05).

Tabela 4 - Média e desvio padrão da FR dos tratamentos nos diferentes momentos antes e após o exercício em cavalos PSI portadores de HPIE não tratados (controle) ou tratados com furosemida ou acupuntura (n=18).

Tratamento	Momento da avaliação		P
	Pré	Pós	
Controle	19,1 ± 4,7aA	65,6 ± 11,8aB	<0,001
Furosemida	24,0 ± 12,4aA	64,7 ± 13,2aB	<0,001
Acupuntura	20,2 ± 9,4aA	68,7 ± 14,5aB	<0,001
P	0,272	0,636	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferiram estatisticamente entre si pela análise de variância e teste de t student (P<0,05).

Tabela 5 - Média e desvio padrão do TPC dos tratamentos nos diferentes momentos antes e após o exercício em cavalos PSI portadores de HPIE não tratados (controle) ou tratados com furosemida ou acupuntura (n=18)

Tratamento	Momento da avaliação		P
	Pré	Pós	
Controle	1,0 [1,0 – 2,0]aA	3,0 [3,0 – 3,0]aB	<0,001
Furosemida	2,0 [1,0 – 3,0]aA	3,0 [3,0 – 3,0]aB	0,009
Acupuntura	1,5 [1,0 – 2,0]aA	3,0 [2,0 – 3,0]aB	0,002
P	0,064	0,765	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferiram estatisticamente entre si pela análise de variância e teste de t student (P<0,05).

Tabela 6 - Média e desvio padrão da TR dos tratamentos nos diferentes momentos antes e após o exercício em cavalos PSI portadores de HPIE não tratados (controle) ou tratados com furosemida ou acupuntura (n=18)

Tratamento	Momento da avaliação		P
	Pré	Pós	
Controle	37,5 ± 0,4aA	39,5 ± 0,4aB	<0,001
Furosemida	37,3 ± 0,7aA	39,4 ± 0,5aB	<0,001
Acupuntura	37,5 ± 0,5aA	39,4 ± 0,6aB	<0,001
P	0,652	0,937	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferiram estatisticamente entre si pela análise de variância e teste de t student (P<0,05).

Tabela 7 - Média e desvio-padrão do VG antes e após o exercício em cavalos PSI portadores de HPIE não tratados (controle) ou tratados com furosemida ou acupuntura (n=18)

Tratamento	Momento da avaliação		P
	Pré	Pós	
Controle	42,8 ± 5,9 bB	66,0 ± 4,4 abA	<0,001
Furosemida	47,2 ± 5,2 aB	67,7 ± 3,1 aA	<0,001
Acupuntura	43,3 ± 3,2 bB	64,5 ± 3,4 bA	<0,001
P	0,006	0,045	

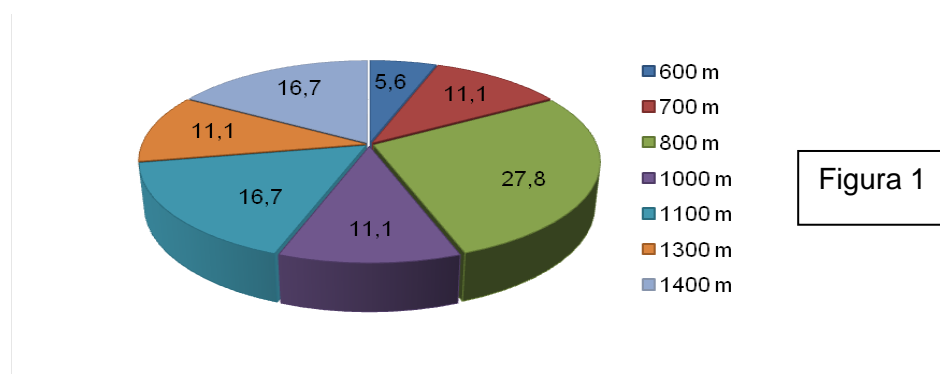
Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 8 - Média e desvio-padrão da PT antes e após o exercício em cavalos PSI portadores de HPIE não tratados (controle) ou tratados com furosemida ou acupuntura (n=18)

Tratamento	Momento da avaliação		P
	Pré	Pós	
Controle	6,38 ± 0,43 B	7,73 ± 0,69 A	<0,001
Furosemida	6,58 ± 0,37 B	8,10 ± 0,85 A	<0,001
Acupuntura	6,41 ± 0,44 B	7,62 ± 0,50 A	<0,001
P	0,270	0,131	

Médias seguidas por letras maiúscula diferentes na linha diferiram estatisticamente entre si pelo teste t pareado (P<0,05).

FIGURAS (a serem enviadas em arquivo separado)



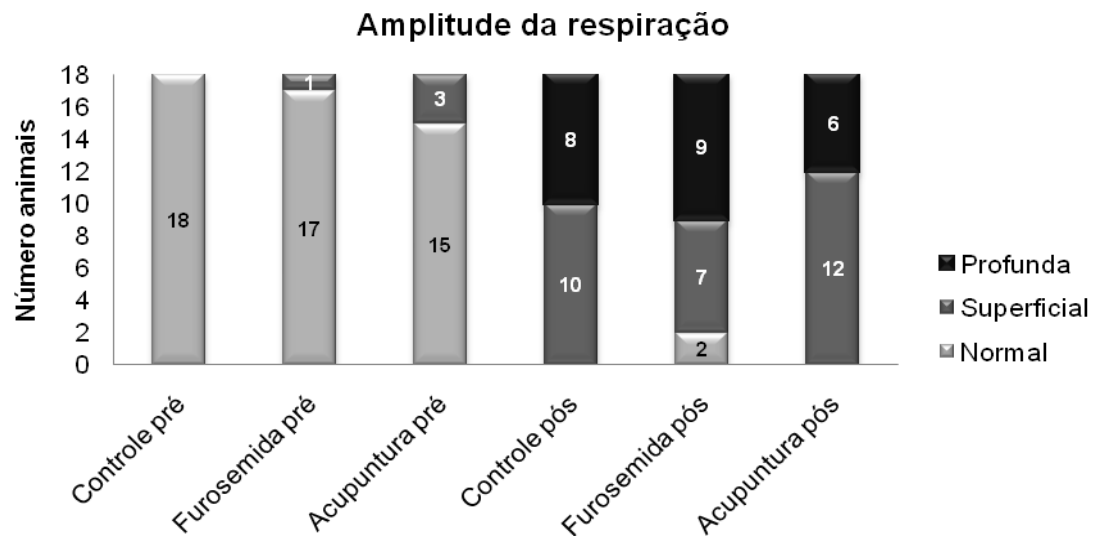


Figura 2

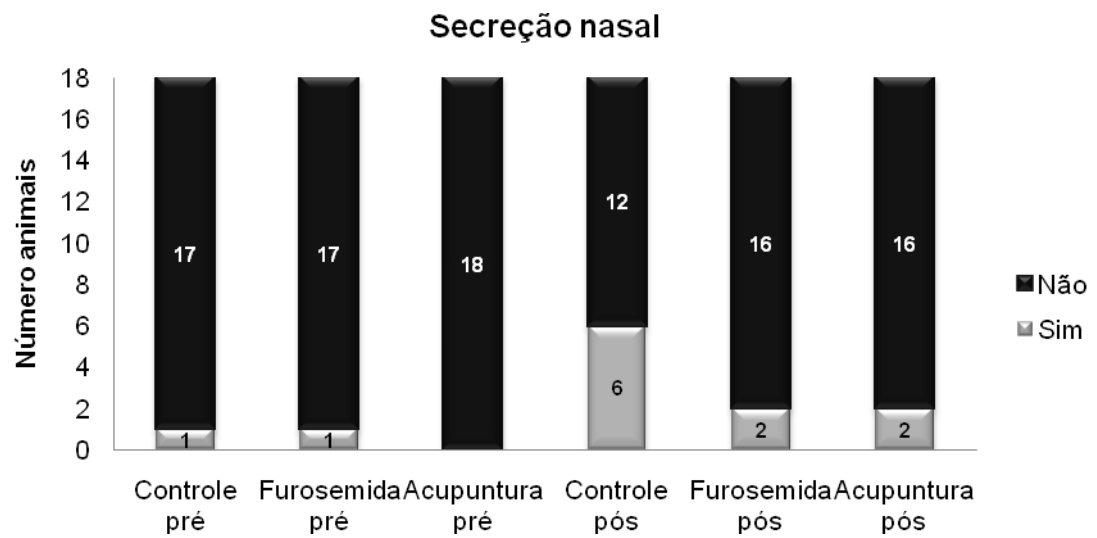


Figura 3

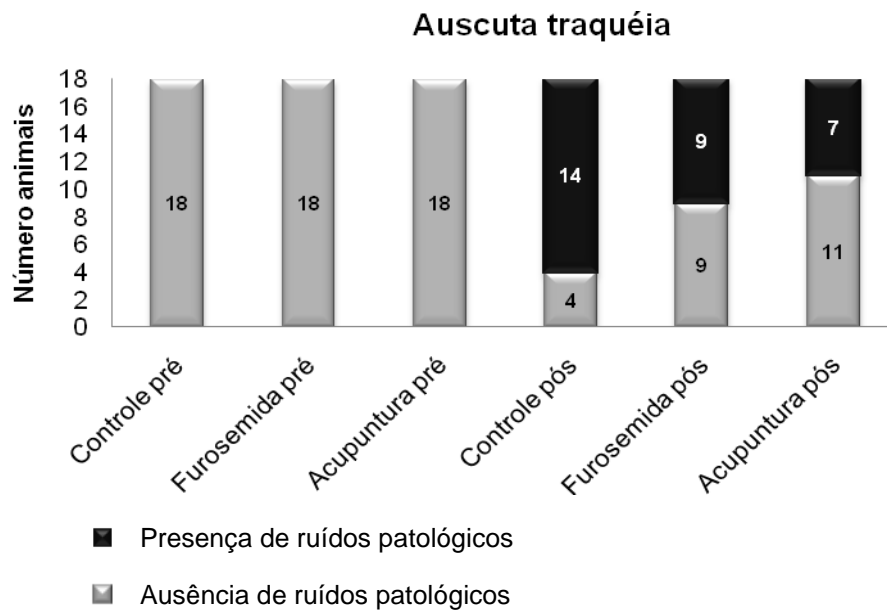


Figura 4

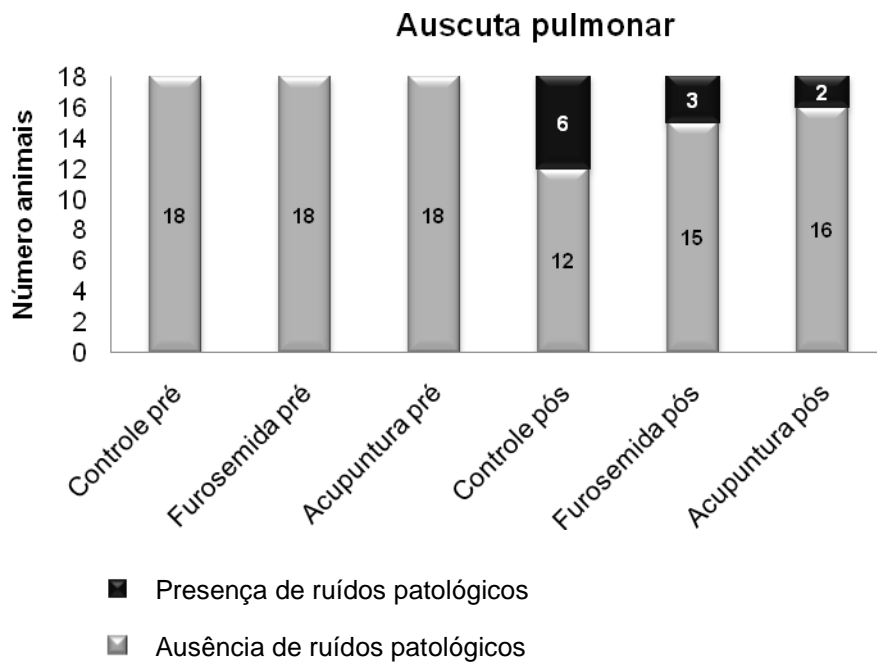


Figura 5

REFERÊNCIAS

- 1- Hinchcliff, K.W. Exercise-induced pulmonary hemorrhage. In: McGorum, B.C.; Dixon, P.M.; Robinson, N.E.; Schumacher, M. (2007) *J Eq Resp Med Surg*, Philadelphia: Saunders Elsevier, p. 617-629.
- 2- Sullivan, S.L., Hinchcliff, K.W. (2015) Update on Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage. *Vet clin North Am: Eq prac* **3**, 187-198.
- 3- Hinchcliff, K.W.; Jackson, M.A.; Morley, P.S.; Brown, J.A.; Dredge, A.E.; O'Callaghan, P.A.; McCaffrey, J.P.; Slocombe, R.E.; Clarke, A.E. (2005) Association between exercise-induced pulmonary hemorrhage and performance in Thoroughbred racehorses. *J Am Vet Med Assoc* **227**, 768-774.
- 4- Jones, W.E. (2003) What do we know today about EIPH? *J Eq Vet Sci* **23**, 283-84.
- 5- King, C. (1995) EIPH: Rational approach to therapy. *J Eq Vet Sci* **15**, 7-12.
- 6- Erickson, H.H.; Poole, D.C. (2002) Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage. In. LEKEUX, P. *Equine Respiratory Disease*. Ithaca: International Veterinary Information Service.
- 7- Hinchcliff, K.W., Muir, W.W. (1991) Pharmacology of Furosemide in the horse: a Review. *J Vet Int Med* **5**, 211-18.
- 8- Hinchcliff, K.W., Morley, P.S., Guthrie, A.J. (2009) Efficacy of furosemide for prevention of exercise-induced pulmonary hemorrhage in thoroughbred racehorses. *J Am Vet Med Assoc* **235**, 76-82.
- 9- Tangjitjaroen, W., Shmalberg, J., Colahan, P. T., Xie, H. (2009) Equine Acupuncture Research: An Update. *J Eq Vet Sci* **29**, 698-709.
- 10- Wilson, D.V., Lanckenau, C., Berney, C.E., Peroni, D.L., Mullineaux, D.R., Robinson, N.E. (2004) The effects of a single acupuncture treatment in horses with severe recurrent airway obstruction. *Equine Vet J* **36**, 489-494.
- 11- Xie, H., Preat, V. (2011) *Acupuntura Veterinária*. 1 ed. São Paulo: MedVet; xxp.
- 12- Pascoe, J.R., Ferraro, G.L., Cannon, J.H.;Arthur, R.M.; Wheat, J.D. Exercise-Induced Hemorrhage in racing Thoroughbreds: A preliminary study. *Am J Vet Research* **42**, 1981.
- 13- Costa M.F.M., Thomassian, A., Gomes, T.S., Maia, E. (2004) Estudo da hemorragia pulmonar induzida por esforço (HPIE) em cavalos de corrida PSI

através de 1889 endoscopias respiratórias após corrida. *Rev bras Cienc Vet* **11**, 89-91.

14- Feitosa, S.L.F. (2014) *Semiologia veterinária, a arte do diagnóstico*, 3 ed. São Paulo: ROCCA, pp 263-276.

15- Thrall, M. A., Baker, D. C., Campbell, T. W., Denicola, D., Fettman, M. J., Lassen, E. D., Rebar, A., Weiser, G. (2007) *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. São Paulo: ROCCA, pp 1-51.

16- Costa, M.F.M., Thomassian, A. (2006) Evaluation of race distance, track surface and season of the year on exercise-induced pulmonary haemorrhage in flat racing Thoroughbreds in Brazil. *Equine Vet J* **38**, 487-9.

17- Sullivan, S.L., Anderson, G.A., Morley, P.S., Hinchcliff, K.W. (2015a) Prospective study of the association between exercise-induced pulmonary haemorrhage and long-term performance in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet J* **47**, 350-57.

18- Angeli, A. L., Luna, S. P. L. (2008) Aquapuncture Improves Metabolic Capacity in thoroughbred Horses. *J Eq Vet Sci* **28**, 525-531.

19- Angeli, A.L., Luna, S. P. L., Garotti, J. R. (2008b) Aquapuntura no tratamento das síndromes equinas: há efeito sobre os valores hematológicos e de cortisol? *ARS Veterinária* **24**, 153-160.

20- Sullivan, S.L., Whitten, T., Morley, P.S., Hinchcliff, K.W. (2015b) A systematic review and meta-analysis of furosemide for exercise induced pulmonary haemorrhage in thoroughbred and standardbred racehorses. *Equine Vet J* **47**, 341-9.

21- Shmalberg, J.& Xie, H. (2009) The clinical application of equine acupuncture. *J Eq Vet Sci* **29**, 645-652.

22- Suzuki, M., Namura, K., Ohno, Y., Tanaka, H., Egawa, M., Yokoyama, Y., et al. (2008) The effect of acupuncture in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *J Altern Complement Med* **14**, 1097-1105.

23- Peterman, U. Acupuncture in Emergency Treatment. (2001) In: 27th international congress on veterinary acupuncture, Ontário – Canadá. Proceedings. pp 45-56.

24- Takahashi, T.; Hiraga, A.; Ohmura, H.; Kai, M.; Jones, J.H. (2001) Frequency of and risk factors for epistaxis associated with exercise-induced pulmonary hemorrhage in horse: 251, 606 race starts (1992 -1997). *J Am Vet Med Assoc* **128**, 215-218.

- 25- Gramkow, H. L.; Evans, D. L. (2006) Correlation of race earnings with velocity at maximal heart rate during a field exercise test in thoroughbred racehorses. *Equine Vet J* **36**, 118-122.
- 26- Hodgson, D.R.; Rose, R.J. (1994) *The athletic horse: principles and practice of equine sports Medicine*. Philadelphia: Saunders, 497 p.
- 27- Luna, S.P.L.; Bulla, C.; Takahira, R.K.; Xavier, F.; Maiante, A.; Angeli, A.L. (2003) Efeito da acupuntura e da acupuntura associada a Panaxpseudoginseng sobre as variáveis hemostáticas em cães. *Rev Cien Med Vet, pequenos animais e animais de estimação* **1**, 119-122.
- 28- Angeli, A.L., Joaquim, J.G.F., Takahira, R.K., Bulla, C., Luna, S.P.L. (2005) Effect of acupuncture, electroacupuncture and Panaxpseudoginseng in blood coagulation variables in horses. *Vet Rec* **157**, 662-664.
- 29- Robinson, G. N. (2009) Making sense of the metaphor: How acupuncture works neurophysiologically. *J Eq Vet Sci* **29**, 642-44.

CAPÍTULO 3 - ANEXOS

1. ANEXO I - Imagens Projeto Piloto



1- Animal em adaptação com a bolsa coletora de urina, em baia individual e se alimentando.



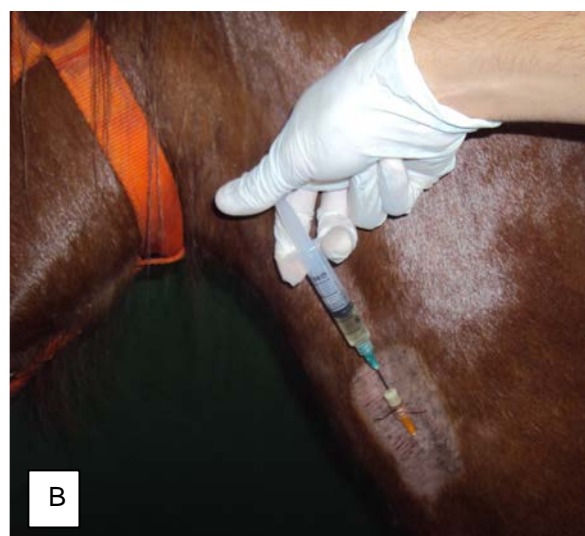
2- Posicionamento da bolsa coletora de urina com fitas de nylon passando pelo tórax e cordões no abdômen.



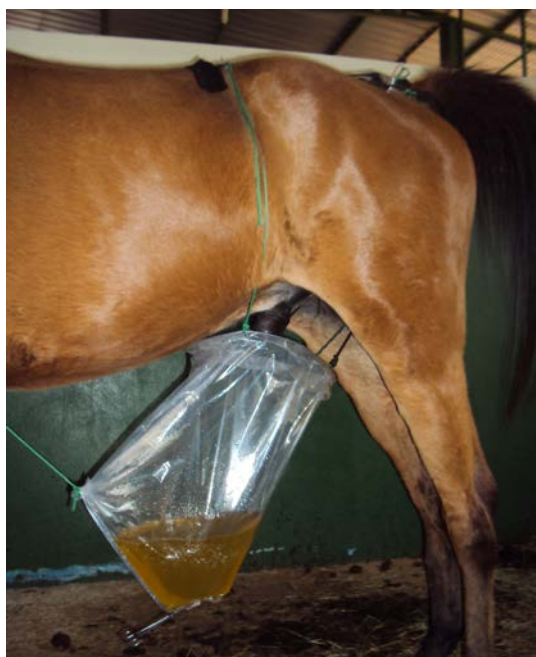
3- Animal durante sessão de acupuntura, posicionamento das agulhas no meridiano de Bexiga sem interferência da fita de nylon.



4- Aplicação da diluição de furosemida preparada para a farmacopuntura no acuponto Be 23.



5- Furosemida sendo aspirada (a) e injetada IV através de um catéter 14G (b).



6- Bolsa de coleta repleta de urina após micção do animal.



A

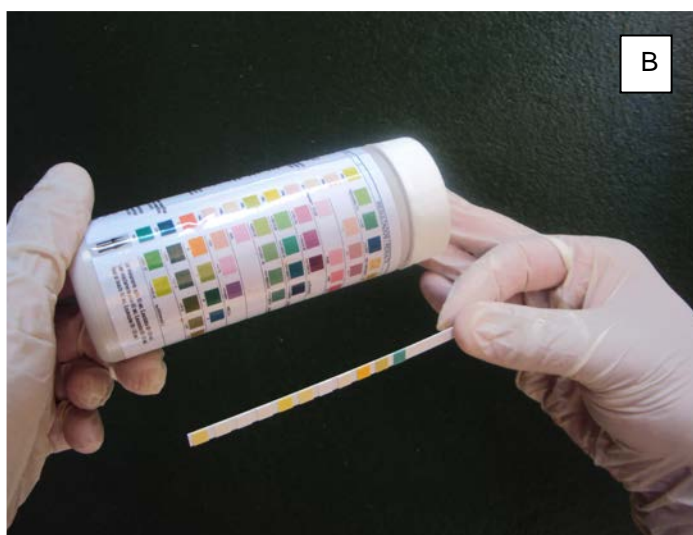


B

7- Transferência de urida da bolsa de coleta para um balde (a) e posterior aferição de volume em proveta de 1L (b).



A



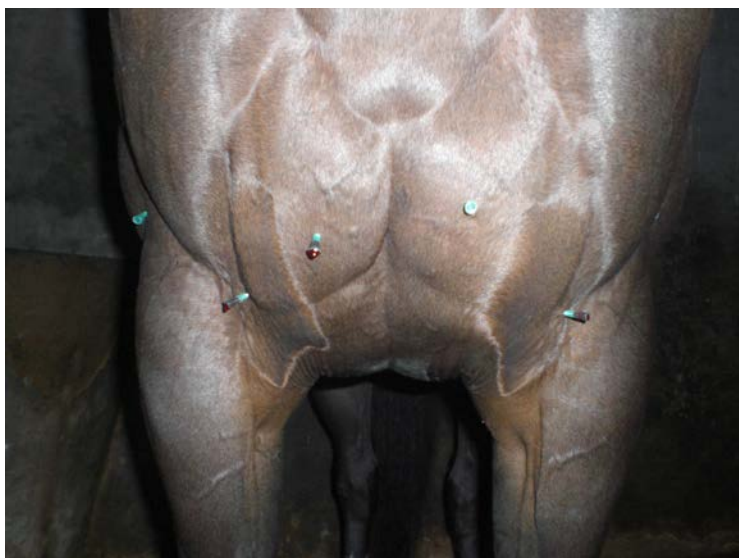
B

8- Imersão da fita de mensuração de densidade na urina (a) e posterior aferição com padrão do rótulo da embalagem (b).

2. ANEXO II - Imagens do Projeto Principal



1- Sangria do acuponto P11 no início da sessão de acupuntura.



2- Posicionamento das agulhas em P1, P5 e Ig 11 durante a sessão de acupuntura.



3- Posicionamento das agulhas em Be 13, 14, 17, 20, 23, 42, 43 e VG 7, durante sessão de acupuntura.



4- Posicionamento das agulhas em BP 10 e R7, durante sessão de acupuntura.



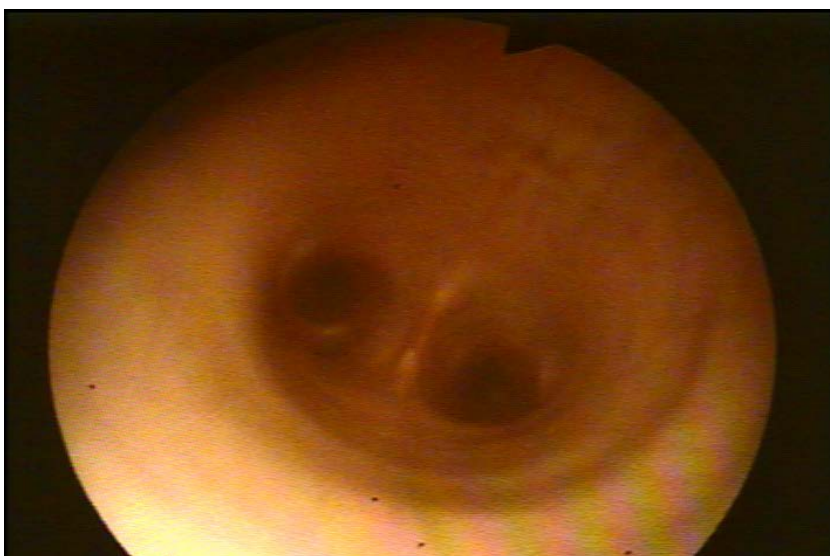
5- Animal durante sessão de acupuntura, destaque para o posicionamento das agulhas em Ig 20.



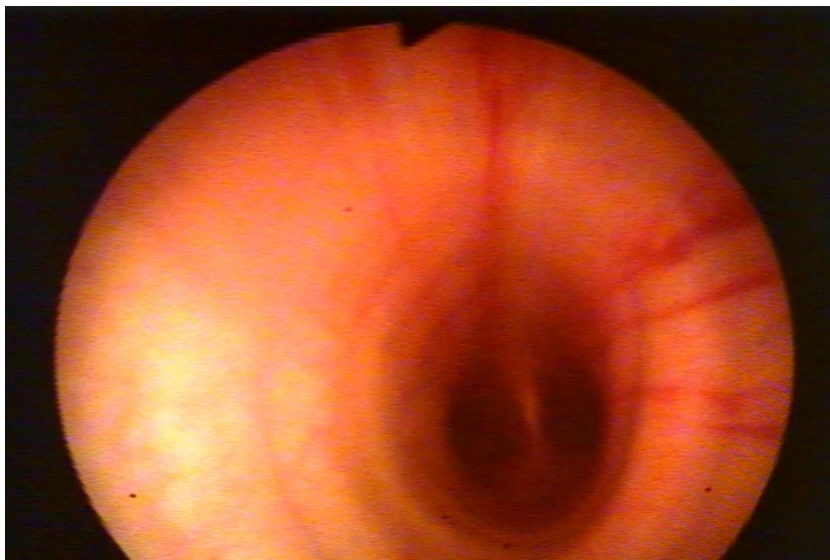
6- Contenção física com "cachimbo" e passagem do endoscópio.



7- Exame endoscópico do trato respiratório superior. Imagem sendo digitalizada e armazenada em computador portátil.



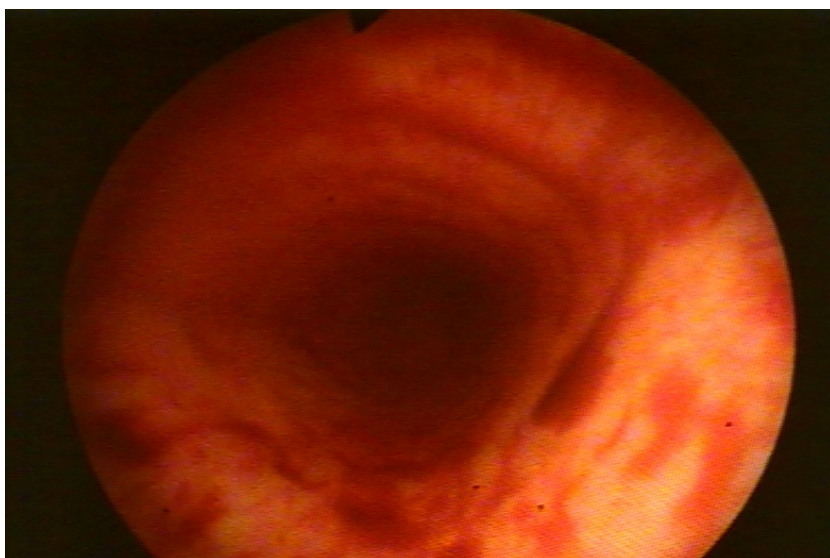
8- Visualização do lúmen traqueal próximo à carina, antes da realização do exercício. Nota-se mucosa normocorada, sem presença de secreção.



9- Visualização do lúmen traqueal próximo à carina, após realização do exercício. Nota-se presença de secreção sanguinolenta compatível a grau I de HPIE.



10- Visualização do lúmen traqueal após realização do exercício. Nota-se presença de secreção sanguinolenta compatível a grau II de HPIE.



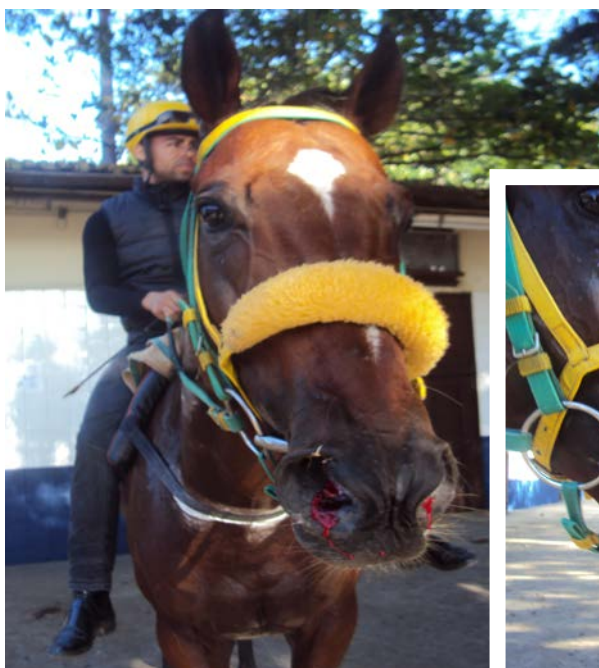
11- Visualização do lúmen traqueal após realização do exercício. Nota-se presença de secreção sanguinolenta compatível a grau III de HPIE.



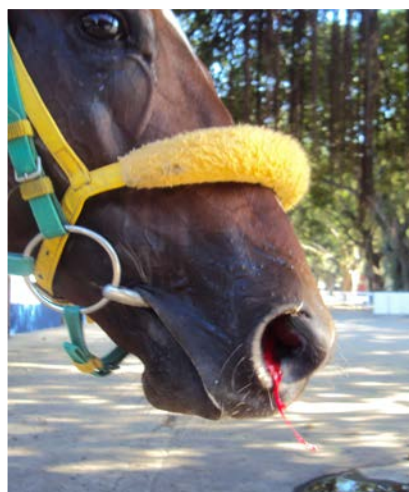
12- Visualização do lúmen traqueal após realização do exercício. Nota-se presença de secreção sanguinolenta compatível a grau IV de HPIE.



13- Visualização da epiglote após realização do exercício. Nota-se presença de secreção sanguinolenta já no exterior da traquéia, compatível a grau V de HPIE.

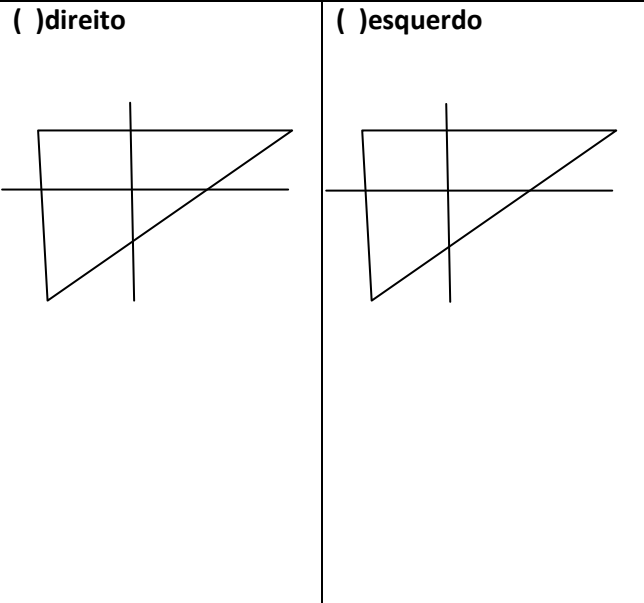


14- Epistaxe após realização do exercício. Característica de grau V de HPIE.



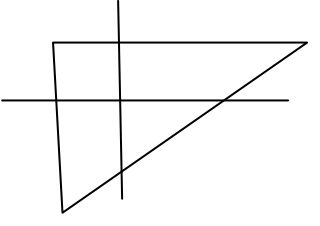
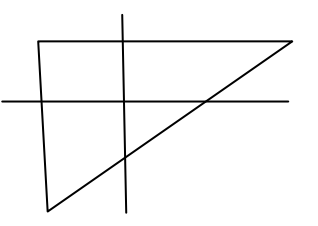
3. ANEXO III - Modelos de ficha de avaliação utilizadas antes (M0) e depois (M1) do exercício no Projeto Principal

Ficha AVALIAÇÃO M0

Nome do Animal:		Nº:	
Data: / / 2015	Hora:	Tratamento:	
EXAME CLÍNICO GERAL			
Freq. cardíaca:		Temperatura retal:	
Coloração de mucosa:		TPC:	
Freq. respiratória:		Amplitude: () normal () superficial () profunda	
Tipo: () costal () abdominal () mista		Modo: () eupnéia () dispnéia	
Secreção nasal: () S () N, () D () E		Tosse: () S () N	
Tipo:		() superficial () profunda () seca () úmida	
Mucosa nasal esquerda:		Mucosa nasal direita:	
() normal () hipocorada () hiperêmica		() normal () hipocorada () hiperêmica	
Extridor laringo-traqueal:		Auscultação da traquéia: () limpa () com ruído	
() ausente () presente		Localização (terço): _____	
() inspiração () expiração		Tipo:	
Auscultação pulmonar:		Localização do ruído pulmonar:	
() limpa		() direito	
() com ruído, tipo: _____		() esquerdo	
Propagação cardíaca: () S () N			
Observação:			

Observações em geral:		
Exame endoscópico:	Observações:	
Grau do sangramento: _____		
Coleta de sangue para lactato? ()		Identificação tubo:
Relizada coleta de sangue para VG e PT? ()S ()N		Identificação tubo:
VG:	PT:	

Ficha AVALIAÇÃO M1

Nome do Animal:		Nº:	
Data: / / 2015	Hora:	Tratamento:	
Exercício: Hora:	Distância:	Tempo:	
	Umidade:	Temperatura:	
Coleta lactato imediatamente após? ()		Identificação tubo:	
Coleta lactato 30 min após? ()		Identificação tubo:	
EXAME CLÍNICO GERAL			
Freq. cardíaca:		Temperatura retal:	
Coloração de mucosa:		TPC:	
Freq. respiratória:		Amplitude: () normal () superficial () profunda	
Tipo: () costal () abdominal () mista		Modo: () eupnéia () dispnéia	
Secreção nasal: () S () N, () D () E		Tosse: () S () N	
Tipo:		() superficial () profunda () seca () úmida	
Mucosa nasal esquerda: () normal () hipocorada () hiperêmica		Mucosa nasal direita: () normal () hipocorada () hiperêmica	
Extridor laringo-traqueal: () ausente () presente () inspiração () expiração		Auscultação da traquéia: () limpa () com ruído Localização (terço): _____ Tipo:	
Auscultação pulmonar: () limpa () com ruído, tipo: _____ Propagação cardíaca: () S () N Observação:		Localização do ruído pulmonar: () direito () esquerdo	
			

Observações em geral:		
Exame endoscópico: Grau do sangramento: _____	Observações:	
Realizada coleta de sangue para VG e PT? ()	Identificação tubo:	
VG:	PT:	