

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
tese será disponibilizado somente
a partir de 10/03/2028

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DESCRIÇÃO DO COMPORTAMENTO E VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA
CARDÍACA DE EQUINOS SUBMETIDOS À SESSÃO DE PLATAFORMA
VIBRATÓRIA**

**Nathali Adrielli Agassi de Sales
Médica Veterinária e Mestra**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DESCRIÇÃO DO COMPORTAMENTO E VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA
CARDÍACA DE EQUINOS SUBMETIDOS A SESSÃO DE PLATAFORMA
VIBRATÓRIA**

Nathali Adrielli Agassi de Sales

Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz

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

S163d

Sales, Nathali Adrielli Agassi de

Descrição do comportamento e variabilidade da frequência cardíaca de equinos submetidos a sessão de plataforma vibratória / Nathali Adrielli Agassi de Sales. -- Jaboticabal, 2026

101 p. : tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Guilherme de Camargo Ferraz

1. Medicina Veterinária. 2. Fisiologia. 3. Equino. 4. Exercício. 5. Vibração de corpo inteiro. I. Título.

Impacto potencial desta pesquisa

A plataforma vibratória (PV) pode ser um método alternativo e coadjuvante para treinamento neuromuscular. O principal atrativo da vibração de corpo inteiro (VCI) consiste na sua capacidade de ser aplicada gerando baixo impacto. Em equinos, as informações na literatura são relativamente limitadas. O presente estudo demonstra inovação para a saúde animal ao avaliar as reações comportamentais de expressões faciais, linguagem corporal e escala de estresse bem como a modulação cardíaca por meio da análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em cavalos durante a fase de recuperação utilizando plataforma vibratória após realização de exercício intenso.

Potencial impacto of this research

The vibrating platform (VP) may serve as an alternative and adjunct method for neuromuscular training. The primary appeal of whole-body vibration (WBV) lies in its ability to be applied while generating low mechanical impact. In equines, the available literature remains relatively limited. The present study demonstrates an innovative contribution to animal health by evaluating behavioral responses including facial expressions, body language, and stress scale, as well as cardiac modulation through heart rate variability (HRV) analysis in horses during the recovery phase following intense exercise using vibrating platform.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: DESCRIÇÃO DO COMPORTAMENTO E VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA DE EQUINOS SUBMETIDOS A SESSÃO DE PLATAFORMA VIBRATÓRIA

AUTORA: NATHALI ADRIELLI AGASSI DE SALES

ORIENTADOR: GUILHERME DE CAMARGO FERRAZ

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Medicina Veterinária, área: Clínica Médica Veterinária pela Comissão Examinadora:

 Documento assinado digitalmente
GUILHERME DE CAMARGO FERRAZ
Data: 10/03/2026 17:17:01-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. GUILHERME DE CAMARGO FERRAZ (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV UNESP Jaboticabal

 Documento assinado digitalmente
ANTONIO RAPHAEL TEIXEIRA NETO
Data: 10/03/2026 17:05:57-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. ANTÔNIO RAPHAEL TEIXEIRA NETO (Participação Virtual)
Departamento de Clínicas Veterinárias / Universidade de Brasília (UnB) - Brasília/DF

 Documento assinado digitalmente
MARCOS JUN WATANABE
Data: 12/03/2026 13:51:55-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. MARCOS JUN WATANABE (Participação Virtual)
Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal / FMVZ UNESP Botucatu

 Documento assinado digitalmente
PEDRO VICENTE MICHELOTTO JUNIOR
Data: 11/03/2026 10:53:05-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. PEDRO VICENTE MICHELOTTO JUNIOR (Participação Virtual)
Departamento de Clínica Veterinária / Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) - São José dos Pinhais/PR

 Documento assinado digitalmente
PAULO ALESCIO CANOLA
Data: 16/03/2026 16:04:52-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. PAULO ALESCIO CANOLA (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 10 de março de 2026.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Nathali Adrielli Agassi de Sales, nascida em 9 de abril de 1990, em Mococa, São Paulo, filha de Aparecida Donizete Agassi de Sales e José Roberto de Sales. Graduiu-se em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual de Londrina, em 2015. Durante a graduação participou de projetos de pesquisa sob orientação do Prof. Dr. Júlio Augusto Naylor Lisboa. Participou do Programa de Iniciação Científica (PROIC) na modalidade IC sem bolsa sob orientação da Profª Drª Karina Keller Marques da Costa Flaiban. Em fevereiro de 2017 ingressou no Programa de Aprimoramento em Clínica Médica e Cirurgia de Grandes Animais no Hospital Veterinária de Uberaba (HVU) da Universidade de Uberaba, sob orientação da Profª. Drª. Cândice Mara Bertonha. Em 2021 obteve o título de mestra em Sanidade e Produção Animal nos Trópicos, pela Universidade de Uberaba (UNIUBE), sob orientação do Prof. Dr. Eustáquio Resende Bittar, com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Atualmente é Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, junto à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz. Durante o período de doutorado foi bolsista CAPES por 24 meses e, posteriormente, bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo nº 2021/10745-0) por 23 meses. Realizou Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior (BEPE, Processo nº 2023/11327-2) durante 12 meses na Università degli Studi di Milano (UNIMI), Lodi, Itália, sob orientação da Profª Drª Emanuela Dalla Costa.

“Apressa-te a viver bem e pensa que cada dia é, por si só, uma vida”

Sêneca

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, pela fé que me fez superar dificuldades e persistir em busca de meus sonhos. Por sempre guiar meus passos.

Agradeço de forma imensurável aos meus pais por todo amor, dedicação, atenção que sempre me cuidaram. Por me conduzirem ao longo deste árduo caminho e proporcionarem esta conquista. Pelos ensinamentos, sobretudo respeito e honestidade. Por serem minha inspiração como ser humano e me fazerem entender o verdadeiro significado da palavra família.

À minha irmã por me ensinar a compartilhar e pensar no próximo, me ensinar a ver o que há de bom em mim e acreditar no meu potencial. Por não ser apenas a irmã que a vida me deu, mas por ser também amiga, companheira e confidente que se tornou. E ao Caio Augusto Cunha por ter se tornado um irmão que a vida me deu. Aos meus sobrinhos, por me ensinarem, apesar de tão novos, o quanto vale a pena viver.

À minha avó, Joana Batista Agassi, que esteve sempre presente em cada momento de minha vida com suas orações que me ajudaram a ter força e seguir nesta longa caminhada. A todos da minha família que acreditaram, torceram e contribuíram com apoio e carinho.

Aos amigos de longa data, em especial à Fernanda Louise Pereira Lavorente, Nara Hernades Gorini, Marielen de Souza e Trayse Granelli Soares que me acompanham desde os tempos em que tudo isso não passava de planos. Obrigada por cada minuto do tempo dedicado a cultivar nossa amizade e me fazer perceber que quando é verdadeiro, o tempo não apaga.

Agradeço à amiga Júlia Perinotto Picelli pela colaboração com ilustrações presentes no trabalho.

Agradeço a todos os colegas de trabalho que encontrei no LAFEQ: Júlia Ribeiro Garcia de Carvalho, Thayssa de Oliveira Littiere, Guilherme Barbosa da Costa, Ana Carolina Yamamoto Silva, Ivan Dario Rodríguez Martínez, Júlia Augusto Alcaide, Catarina Mariano de Castro e Larissa Santos dos Anjos. E a todos os alunos do treinamento técnico que contribuíram de alguma forma. O desenvolvimento desse trabalho só foi possível graças à colaboração de vocês. Agradeço por cada momento compartilhado e todos os ensinamentos.

Agradeço a todos os professores que ao longo da minha vida acadêmica serviram de inspiração e me apoiaram.

Ao Professor Guilherme de Camargo Ferraz, pela oportunidade e confiança. Agradeço por me orientar ao longo desse percurso tão árduo, ter paciência em ensinar, me incentivar, aconselhar e acolher, antes de tudo como ser humano.

Ao Professor João Alberto Negrão e a todos do Laboratório de Fisiologia Animal (LAFA) pela importante contribuição para realização de parte do presente trabalho.

À Professora Emanuella Dalla Costa que desde o primeiro momento se mostrou solícita em contribuir com o trabalho, bem como me guiar para o desenvolvimento de parte importante dele. Me ensinar não somente sobre comportamento de equinos, mas como fazer alguém se sentir parte de um grupo, mesmo sendo visitante.

À banca examinadora da defesa Prof. Dr. Antônio Raphael Teixeira Neto, Profª Drª. Marcos Jun Watanabe, Prof. Dr. Pedro Vicente Michelotto Júnior, Prof. Dr. Paulo Alécio Canola por aceitarem contribuir com o presente trabalho.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) por proporcionar toda a estrutura que possibilitou a realização desse sonho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela concessão da bolsa que possibilitou a realização desse projeto (Processos FAPESP números 2021/10745-0 e 2023/11327-2).

Ao Odair Oian (Deco) por cuidar tão bem dos cavalos ao longo de todos esses anos.

Aos animais que despertaram em mim a vontade de exercer a Medicina Veterinária, especialmente aos cavalos, espécie escolhida para tal, com a qual aprendo a cada dia. E em específico aos que participaram desse projeto: Leviana, Antíope, Baia, Alegria, Mara, Atossa, Loira, Jaú e Pérsico.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TABLES LIST	Viii
FIGURES LIST.....	X
CHAPTER 1 - General Considerations.....	1
1. INTRODUCTION.....	1
2. LITERATURE REVIEW	3
2.1 Whole-body vibration	3
2.2 Indicators of animal welfare, assessment of facial expressions and body behavior	5
2.3 Physiological indicators of perceived exertion.....	7
2.4 Heart rate and heart rate variability (HRV)	8
2.5 Lactate	9
2.6 Cortisol	10
3. FINAL CONSIDERATIONS	11
4. REFERENCES.....	11
CHAPTER 2 – A single session of whole-body vibration did not affect cardiovascular autonomic recovery after a high intensity exercise in horses ¹	19
ABSTRACT.....	20
1. Introduction	21
2. Materials and methods	24
2.1 Ethical approval	24
2.2 Horses.....	24
2.3 Treadmill and whole-body vibration desensitization.....	25
2.4 Standardized exercise test (SET) for lactate threshold (LT) determination	25
2.5 Experimental groups	26
2.6 Acute intensive exercise bout (AIEB)	27
2.7 Whole-body vibration bout	27
2.8 Beat-to-beat (RR) intervals recording	28
2.9 Statistical Analysis	31
3. Results	32
4. Discussion.....	37

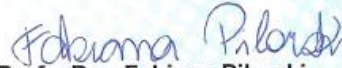
5. Conclusion	43
6. References.....	44
7. Supplementary material.....	51
CHAPTER 3 - Behavioral and physiological responses of horses to acute whole-body vibration (WBV) during recovery after intense exercise bout	56
Abstract.....	57
1.Introduction	58
2. Materials and methods	60
2.1. Ethical approval	60
2.2. Horses.....	60
2.3 Treadmill and whole-body vibrating conditioning	61
2.4 Acute intense exercise bout (AIEB)	61
2.5 Whole-body vibration session	61
2.6 Experimental design.....	62
2.7 Plasma cortisol concentration.....	63
2.8 Behavioral variables	64
2.9 Statistical analysis.....	68
3. Results	69
3.1 Cortisolemia	69
3.2 Behavioral variables	69
4. Discussion	72
5. Conclusions.....	76
6. References.....	76
7. Supplementary material	81

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS****CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado “**Descrição do comportamento e variabilidade da frequência cardíaca de equinos submetidos a sessão de plataforma vibratória**”, protocolo nº 2309/21, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 16 de setembro de 2021.

Vigência do Projeto	04/10/2021 a 01/12/2024
Espécie / Linhagem	<i>Equus ferus caballus</i>
Nº de animais	12 animais
Peso / Idade	± 450 kg / ± 15 anos
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	FCAV Unesp Jaboticabal

Jaboticabal, 16 de setembro de 2021.


Profa. Dra. Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

DESCRIÇÃO DO COMPORTAMENTO E VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA DE EQUINOS SUBMETIDOS A SESSÃO DE PLATAFORMA VIBRATÓRIA

RESUMO - A plataforma vibratória (PV), descrita na literatura internacional como *whole-body vibration* (WBV), pode ser um método alternativo e coadjuvante para treinamento neuromuscular. O principal atrativo da vibração de corpo inteiro (VCI) consiste na sua capacidade de ser aplicada gerando baixo impacto. Em equinos, as informações na literatura são relativamente limitadas. O presente estudo teve como objetivo avaliar as reações comportamentais de expressões faciais, comportamento corporal e escala de estresse e a modulação cardíaca por meio da análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em cavalos durante a fase de recuperação utilizando VCI após realização de exercício intenso. Foram utilizados oito cavalos, sendo sete fêmeas e um macho castrado, com idade entre sete e 19 anos e massa corpórea de 406 ± 33 kg. A prescrição de carga externa da sessão de exercício intenso (SEI) foi feita com base na velocidade correspondente ao limiar de lactato (VLL) determinada em teste de esforço incremental (TEI) realizado por todos os animais na fase inicial do presente estudo. Posteriormente os cavalos foram divididos em três grupos seguindo delineamento *crossover* e todos os grupos foram submetidos à SEI que consistiu em 5 min de aquecimento, sem inclinação, 2 min a 110% da VLL e 3 min a 130% da VLL com inclinação de 5%. O grupo esteira (GE) realizou recuperação ao passo na esteira. O grupo controle negativo (PVN) permaneceu sob a plataforma desligada. E o grupo plataforma vibratória (PV) realizou recuperação utilizando VCI sendo que o protocolo consistiu em cinco fases de 2 min em cada frequência: 76, 66, 55, 46 e 32 Hz. Todos os métodos de recuperação tiveram duração de 10 minutos. As gravações para estudo das reações comportamentais e a frequência cardíaca (FC) foram realizadas antes da SEI e durante todo o período de recuperação. Foi estabelecido etograma no qual os comportamentos foram divididos em 'estado' ou 'evento' e classificados conforme tensão ou relaxamento com relação à linguagem corporal. As expressões faciais foram distribuídas de acordo com as unidades de ação facial, na literatura conhecidas como (facial action units – FAUs). E ainda foi estabelecida uma escala de estresse que levou em conta comportamentos gerais, como por exemplo, atitude, presença de estereotípias, postura, posicionamento de cabeça entre outros. Os dados utilizados de FC foram processados para cálculos dos índices de variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo (RR médio, intervalo inter batimentos; SDNN, desvio padrão de todos os intervalos RR normais; RMSSD, raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes; pNN50, porcentagem de pares de intervalos RR adjacentes cuja diferença é maior que 50 ms em toda a gravação; e no domínio da frequência (LF, baixa frequência; HF, alta frequência; e LF/HF, razão entre baixa e alta frequências), bem como a FC média. Os dados de pNN50 e LF/HF foram submetidos a transformação logarítmica por serem heterocedásticos. Foi realizado teste não paramétrico para comparação das variáveis comportamentais e análise de variância de duas vias para medidas repetidas e teste T pareado com correção de Bonferroni para VFC e ($P < 0,05$). Segundo o etograma de expressões faciais, a VCI pode causar

leve relaxamento na área acima dos olhos (supraorbital) ($P = 0,039$) e uma tendência ao relaxamento, segundo a escala de estresse, no grupo PV ($P = 0,063$). A FC foi maior no grupo GE e intervalo RR médio foram menores no mesmo grupo ($P < 0,001$ para ambos) durante o período de recuperação. Para as demais variáveis não houve influência dos métodos de recuperação. Conclui-se que o protocolo de VCI utilizado no presente estudo não melhorou a modulação autonômica cardíaca e pode estar relacionada a um leve relaxamento em região supraorbitária de cavalos submetidos a exercício agudo intenso. No contexto da fisiologia do exercício levando em conta variáveis fisiológicas e comportamentais avaliadas no presente trabalho, não se justifica o uso de tal equipamento como método de recuperação após exercício, uma vez que não houve benefício expressivo que justifique o investimento.

Palavras-chave: comportamento, variabilidade da frequência cardíaca, plataforma vibratória, relaxamento, sistema nervoso autônomo

DESCRIPTION OF THE BEHAVIOR AND HEART RATE VARIABILITY OF HORSES SUBJECTED TO A VIBRATING PLATFORM SESSION

ABSTRACT - Vibration platforms (VP), described in international literature as whole-body vibration (WBV), can be an alternative and adjunctive method for neuromuscular training. The main attraction of WBV lies in its ability to be applied with low impact. In horses, information in the literature is relatively limited. The present study aimed to evaluate behavioral reactions of facial expressions, body behavior, and stress scale and cardiac modulation through the analysis of heart rate variability (HRV) in horses during the recovery phase using WBV after intense exercise. Eight horses were used, seven females and one castrated male, aged between seven and 19 years and with a body mass of 406 ± 33 kg. The external load prescription for the acute intense exercise bout (AIEB) was based on the velocity corresponding to the lactate thresholds (LTV) determined in a standardized exercise test (SET) performed by all animals in the initial phase of this study. Subsequently, the horses were divided into three groups following a crossover design, and all groups underwent AIEB, which consisted of 5 minutes of warm-up without inclination, 2 minutes at 110% of VLL, and 3 minutes at 130% of VLL with slope of 5%. The treadmill group (TG) recovered at a walk on the treadmill. The sham group (SG) remained on the platform with the device turned off. The vibration platform group (WBVG) recovered using WBV, with the protocol consisting of five 2-minute phases at each frequency: 76, 66, 55, 46, and 32 Hz. All recovery methods lasted 10 minutes. Behavioral reactions recordings and heart rate (HR) were performed before AIEB and throughout the recovery period. An ethogram was established in which behaviors were categorized as either 'state' or 'event' and further classified according to body-related tension or relaxation. Facial expressions were categorized based on facial action units (FAUs), as described in the literature. Additionally, a stress scale was developed, considering general behavioral parameters such as overall demeanor, the presence of stereotypies, posture, head position, among others. The heart rate (HR) data used were processed to calculate heart rate variability indices in the time domain (mean RR, mean of interbeat interval; SDNN, standard deviation of all normal RR intervals; RMSSD, root square of the mean of the squared differences between adjacent normal RR intervals; pNN50, percentage of adjacent RR pairs different by more than 50 ms in the entire recording); and frequency domain (LF, low frequency; HF, high frequency; and LF/HF, ratio of low and high frequencies) as well as mean HR. Both index pNN50 and LF/HF data underwent a logarithmic transformation due to their heteroscedastic nature. A non-parametric test was used to compare behavioral variables and a two-way ANOVA for repeated measures and a paired t-test with Bonferroni correction were performed for HRV ($P < 0.05$). HR was higher in the TG, and the mean RR interval was lower in the same group ($P < 0.001$ for both) during the recovery period. The recovery strategies did not influence the other variables. According to the facial expression ethogram, the WBV can cause slight relaxation in the area above the eyes ($P = 0.039$) and a tendency of relaxation according to stress scale ($P = 0.63$, the trend was considered significant at $0.05 < P < 0.10$). It is concluded that the WBV protocol used in this study did not improve cardiac autonomic modulation and may be related to a slight relaxation in supraorbital region of horses subjected to intense acute exercise. In the context of exercise physiology, considering the physiological and behavioral variables assessed

in the present study, the use of such equipment as an evaluation method is not justified, as there was no significant benefit to warranting the investment.

Keywords: behavior, heart rate variability, vibration platform, relaxation, autonomic nervous system

TABLES LIST

Chapter 2

Table 1. Mean $\pm$ SD (95% confidence interval-CI) of heart rate and R-R intervals of horses (n=8) during recovery on the treadmill (TG), using whole-body vibration (WBVG), and with the vibrating platform off (SG) after an acute intensive exercise bout (AIEB).....	36
Supplementary Table 1. Standardized exercise test (SET) protocol.	51
Supplementary Table 2. Velocities correspond to the lactate threshold using the visual method (VLTV) and the bi-segmented method (VLTBI).	52
Supplementary Table 3. Descriptive statistics of heart rate (HR), heart rate variability (HRV) time-domain and frequency-domain measures for horses (n=8) during baseline and recovery strategies: treadmill group (TG), whole-body vibration group (WBVG), and sham group (SG), after an AIEB.....	53

Chapter 3

Table 1. Description of behaviors included in the ethogram used to evaluate anxiety and relaxation in horses (n = 8) submitted to WBV session (WBVG) and VP turn off (SG) after AIEB.....	65
Table 2. Facial Actions Units (FAUs) used for the Horse Grimace Scale (HGS) to assess tension in the horses (n=8) during recovery using whole-body vibration (WBVG) or not (Sham group - SG) after Acute Intense Exercise Bout (AIEB). The table has been adapted from [22]..	65
Table 3. Mean and SD of frequency of anxiety-related classified as 'event' behaviors measured on horses during recovery phase after AIEB, in the two treatment groups, using whole-body vibration (WBVG) or not (Sham group SG).....	68
Table 4. Mean and SD of seconds of anxiety-related behaviors classified as 'state' measured on horses during recovery phase after AIEB, in the two treatment groups	

using whole-body vibration (WBVG) or not (Sham group - SG)	70
--	----

Table 5. Mean $\pm$ SD of seconds of relaxation-related behaviors classified as 'state' measured on horses during recovery phase after AIEB, in the two treatment groups, using whole-body vibration (WBVG) or not (Sham group - SG)	70
---	----

Supplementary Table 1. Standardized exercise test (SET) protocol to access the velocity corresponding to the lactate threshold (VLT)	81
---	----

Supplementary Table 2. Mean $\pm$ SD (95% confidence interval-CI) of cortisolemia of horses ($n=8$) during recovery using whole-body vibration (WBVG), and with the vibrating platform off (SG) after an acute intense exercise bout (AIEB)	81
--	----

FIGURES LIST

Chapter 2

- Figure 1.** (A) Placement of a heart rate monitor and the Polar H10 heart rate sensor using a soft textile belt for horses and (B) measurement of the heart rate on the whole-body vibration equipment.29
- Figure 2.** Time points of HR and HRV collecting data (Baseline and Recovery) of horses (n=8) submitted to an acute intensive exercise bout (AIEB) and a 10-minute recovery period on the treadmill (TG), on a whole-body vibration session (WBVG), and the vibration platform off (SG).30
- Figure 3.** Means (central line) $\pm$ standard deviation (top and bottom line) of (A) mean HR, (B) mean RR, (C) standard deviation of all normal RR intervals – SDNN; (D) square root of the mean of the squared differences between adjacent normal RR intervals – RMSSD; (E) percentage of adjacent RR pairs different by more than 50 ms in the entire recording – pNN50; (F) low frequency – LF; (G) high frequency – HF; (H) ratio of low and high frequencies (LF/HF) on horses (n=8) during the baseline in each experimental block.33
- Figure 4.** Dendrogram showing the hierarchy of the groups according to the different methods of recovery: treadmill group (TG); whole-body vibration group (WBVG); and sham group (SG).34
- Figure 5.** K-Means clustering, clusters were generated through averaging the data by means of K centroids. Visual comparison of existing linkage methods and the centroid approach found the average of pairwise distances between variables closest to the centers of candidate groups to be joined. The distances between centroids were calculated, and there was a separation between the baseline variables and recovery variables of horses (n=8) submitted to an acute intensive exercise bout and a 10-minute recovery period on the treadmill, on a whole-body vibration session, and the sham group (SG).35
- Figure 6.** Heart rate variability measures of horses undergoing post-exercise recovery in three different groups: treadmill group (TG), whole-body vibrating group (WBVG), and sham group (SG). (A) SDNN: standard deviation of all normal RR intervals; (B) RMSSD: square root of the mean of the squared differences between adjacent normal

RR intervals; (**C**) pNN50: percentage of adjacent RR pairs different by more than 50 ms in the entire recording; (**D**) LF: low frequency; (**E**) HF: high frequency; (**F**) LF/HF: ratio of low and high frequencies. * Depicting significant effect between moments ($P < 0.05$).....37

Chapter 3

Figure 1. Distribution of the horses ($n = 8$) throughout two recovery strategies (WBVG and SG), after an intense exercise bout, in a cross-over design. AIEB, acute intense exercise bout; WBVG, whole-body vibration group; SG, sham group; H, horse.

.....63

Figure 2. Scheme about how the cameras were organized during recovery phase using WBV strategy after AIEB.

.....64

Figure 3. Duration (sec) of five Facial Action Units (FAUs), scoring 0 (obviously not present) during the recovery strategies, of horses submitted to 10-minute recovery period on a whole-body vibration session (WBVG) and the vibrating platform off (SG) after an acute intense exercise bout (AIEB). * Indicates statistical significance ($P < 0.05$)

.....71

Figure 4. Stress indicator scale on horses during the recovery phase using the whole-body vibration bout (WBVG) and vibrating platform turn off (SG) after an acute intense exercise bout (AIEB)..72

CHAPTER 1 General Considerations

1. INTRODUCTION

The global equine herd totals approximately 61 million subjects (FAO, 2019). Of this total, Brazil has 5 million horses, with approximately 1,100,000 participating in sports and leisure activities (MAPA, 2015). The different modalities of equestrian sports are expanding and require greater financial investments, as well as research and commitment to evaluate and improve animal welfare within the numerous segments of the Horse Agribusiness Complex.

Physiological and cognitive adjustments that equine athletes make to face the challenges of adapting to their environment can be measured and used as tools for evaluating certain behavioral changes (Molento, 2005). From this perspective, some equine behavioral expressions can provide parameters through their body language, along with physiological variables indicative of physical exertion. To this end, it is necessary to understand the animals' behavioral expressions and differentiate their perception of effort or even nociception, which, under certain conditions, may be inherent to the practice of physical exercise.

In this way, new products and services can be conceived, which can be the subject of scientific research (Lima; Cintra, 2016; Forbes, 2018). The area of exercise physiology can be an area of interaction between sports science and equine science. In this sense, assessments of physical fitness and the prescription of new forms of training can improve performance, with a reduction in the incidence of injuries (Soares et al., 2014). The knowledge acquired in this area is relatively recent, established in the last 40 years (Marlin, 2015; Allen et al., 2016).

In this scenario, the use of whole-body vibration, through a vibration platform (VP), a non-invasive and non-pharmacological technique that has been used and studied in humans (Coza et al., 2011; Elmantaser et al., 2012; Kale et al., 2024), rodents (Huang et al., 2014; Chen et al., 2018) and horses (Buchner et al., 2017) as a training device is a method to be considered. Basically, the whole-body vibration methodology aims to improve biomechanics, physiology, and other performance indices (Luo et al., 2016), and can also be used as a method to increase bone density

(Maher, 2016).

Currently, some equine owners, trainers, and veterinary physiotherapists assume that VP improves athletic performance. However, there is still controversy regarding its effects on optimizing the performance of equine athletes. There are studies with positive reports in humans regarding flexibility, pain reduction, and improved movement. However, the results on athletic performance are still questionable (Cochrane, 2013).

Within the framework of exercise physiology, the assessment of facial expressions and other behavioral indicators in horses may provide relevant information regarding their physical and psychological states following exercise. Trindade et al. (2020) reported that, after a working day, horses exhibited an increased frequency and duration of behaviors indicative of rest. Additionally, a reduction was observed in behaviors associated with attentional states and in fly-avoidance movements.

During intense exercise, such as in an interval training session or sprint, the horse undergoes acute adjustments, including physiological, metabolic, cardiovascular, endocrine, and psychological changes (Ferraz, 2006; Nyerges-Bohák et al. 2021). One of these studies evaluated heart rate variability (HRV), observing that this variable can be a good indicator for assessing and individualizing training. It was also possible to conclude that there was an improvement in the state of the cardiac autonomic nervous system after the training period (Nyerges-Bohák et al. 2021). HRV has gained prominence in recent years, both in human and veterinary medicine, for evaluating these adjustments caused by acute and chronic exercise. This measure is determined from the fluctuation of time intervals between adjacent heartbeats and is considered a clinical variable for evaluating the autonomic nervous system (ANS) in humans and animals (Rasmussen et al., 2011; Shaffer; Ginsberg, 2017; Restan et al., 2020; Nyerges-Bohák et al., 2021).

Heart rate variability (HRV), obtained over short or ultrashort periods (minutes or seconds), can yield distinct physiological results when compared to methodologies using 24-hour Holter monitoring (Shaffer; Ginsberg, 2017). For this reason, 24-hour HRV recordings can be considered the "gold standard" for clinical HRV assessment in veterinary and human medicine (Rasmussen et al., 2011; Shaffer; Ginsberg, 2017). However, a study validated HRV assessment with short-duration measurements

during high-intensity exercise (Ter Woort et al., 2020). In amateur show jumping horses, it was found that HRV-related variables were affected according to the level of competition. Therefore, this measure proves to be effective and sensitive for use as a load analysis method for show jumping horses (Szabó & Vizesi & Vincze, 2021).

Cortisol levels are useful indicators of stress in exercising horses (Hyypä, 2005). With respect to the VP, two studies have reported reductions in cortisol levels, which may indicate decreased stress in horses (Carstanjen et al., 2013; Sugg, 2018).

Considering these findings, there is a clear need for studies investigating the relationship between the use of VP, performance and welfare in horses, with the aim of improving the understanding of the physiological and behavioral responses elicited during and after its application. Moreover, the existing literature on equine exercise physiology and ethology remains limited, particularly with respect to studies examining the interaction between exercise or training protocols and VP.

Within this context, the objectives were:

- To validate the use of body behaviors to assess the well-being of horses subjected to the use of a vibration platform as an adjunct in training.
- To validate the use of facial expressions to assess the well-being of horses subjected to the use of a vibration platform as an adjunct in training.
- To evaluate the heart rate variability of horses subjected to the use of a vibration platform as an adjunct in training.
- To evaluate the cortisol concentration of horses subjected to the use of a vibration platform as an adjunct in training.

5. Conclusions

Our findings allow us to conclude that the WBV protocol used did not promote improvement in the recovery post-exercise, although it was observed relaxation according to the FAU called tension above the eye area (supraorbital region). Therefore, new studies involving a broader sample size and another protocol are necessary to fully understand the possible effect of this treatment in the recovery post-exercise.

6. References

- Vasile, A., Trifan, E. L., Bucşan, C., & Micu, C. A. (2013, October). Electro-magnetic actuated vibrating platform. In 2013 IEEE 19th International Symposium for Design and Technology in Electronic Packaging (SIITME) (pp. 241-244). IEEE. <https://doi.org/10.1109/SIITME.2013.6743683>
- Agostinho, M., Rahal, S., Bonatelli, S., Rosa, G., Tsunemi, M., Zadra, V., Mamprim, M., Takahira, R., Souza, P., Santos, I., 2024. Evaluation of infrared thermography,

² This chapter corresponds to a scientific article submitted to Applied Animal Behavior Science

arterial Doppler ultrasound, and Doppler echocardiography in healthy adult dogs exposed to a single session of Whole-body vibration at different frequencies. *Ankara Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 71, 335–341. <https://doi.org/10.33988/auvfd.1227213>

Aoyama, A., Yamaoka-Tojo, M., Obara, S., Shimizu, E., Fujiyoshi, K., Noda, C., Matsunaga, A., Ako, J., 2019. Acute effects of whole-body vibration training on endothelial function and cardiovascular response in elderly patients with cardiovascular disease: A single-arm pilot study. *Int. Heart J.* 60, 854–861. <https://doi.org/10.1536/ihj.18-592>

Azeredo, C.F., de Paiva, P. de C., Azeredo, L., da Silva, A.R., Francisca-Santos, A., Paineiras-Domingos, L.L., da Silva, A.L.P., Bernardes-Oliveira, C.L., Pessanha-Freitas, J., Moura-Fernandes, M.C., Mendonça, R.G., Bachur, J.A., Teixeira-Silva, Y., Moreira-Marconi, E., Guedes-Aguiar, E. de O., de Oliveira, B.B.M., Neves, M.F., Ferreira-Souza, L.F., Xavier, V.L., Borges, D.L., Lacerda, A.C., Mendonça, V.A., Souza, A., Taiar, R., Sartorio, A., Bernardo-Filho, M., de Sá-Caputo, D. da C., 2019. Effects of whole-body vibration exercises on parameters related to the sleep quality in metabolic syndrome individuals: A clinical trial study. *Applied Sciences (Switzerland)* 9. <https://doi.org/10.3390/app9235183>

Buchner, H.H.F., Zimmer, L., Haase, L., Perrier, J., Peham, C., 2017. Effects of Whole Body Vibration on the Horse: Actual Vibration, Muscle Activity, and Warm-up Effect. *J. Equine Vet. Sci.* 51, 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2016.12.005>

Buckley, P., Dunn, T., More, S.J., 2004. Owners' perceptions of the health and performance of Pony Club horses in Australia. *Prev. Vet. Med.* 63, 121–133. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.01.013>

Carstanjen, B., Balali, M., Gajewski, Z., Furmanczyk, K., Bondzio, A., Remy, B., Hartmann, H., 2013. Short-term whole body vibration exercise in adult healthy horses. *Pol. J. Vet. Sci.* 16, 403–405. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2013-0057>

Carvalho, J.R.G., Sales, N.A.A., Littiere, T.O., Costa, G.B., Castro, C.M., Polisel, E.E.C., Orsi, J.B., Ramos, G.V., Santos, I.F.C., Gobatto, C.A., Manchado-Gobatto, F.B., Ferraz, G.C., 2025. Acute whole-body vibration as a recovery strategy did not alter the content of gluteus medius monocarboxylate-transporters, lactatemia, and acidosis induced by intense exercise in horses. *Front. Vet. Sci.* 12. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1538195>

Christensen, J.W., Rundgren, M., Olsson, K., 2006. Training methods for horses: Habituation to a frightening stimulus. *Handbook of Environmental Chemistry, Volume 5: Water Pollution* 38, 439–443. <https://doi.org/10.2746/042516406778400574>

Dalla Costa, E., Minero, M., Lebelt, D., Stucke, D., Canali, E., Leach, M.C., 2014. Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a pain assessment tool in horses undergoing routine castration. *PLoS One* 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092281>

² This chapter corresponds to a scientific article submitted to *Applied Animal Behavior Science*

David Fay, A.S., Gerow Affiliations, K., 2005. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. WormBook: The Online Review of *C. elegans* Biology. WormBook. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.159.1>

Dyson, S., Pollard, D., 2021. Application of the ridden horse pain ethogram to elite dressage horses competing in world cup grand prix competitions. *Animals* 11. <https://doi.org/10.3390/ani11051187>

Ellis, K.L., Morris, C., Harbold, A.F., Yokeley, M.E., Franklin, L.E., Phelps, L.M., Phelps, K.M., Moorman, V.J., 2024. The effect of whole-body vibration therapy on mechanical nociceptive thresholds and postural stability in horses with thoracolumbar pain. *Journal of Equine Rehabilitation* 2, 100015. <https://doi.org/10.1016/j.eqre.2024.100015>

Ferraz, G. D. C., Teixeira-Neto, A. R., Pereira, M. D. C., Linardi, R. L., Lacerda-Neto, J. C. D., & Queiroz-Neto, A. D. (2010). Influência do treinamento aeróbio sobre o cortisol e glicose plasmáticos em equinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62, 23-29. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352010000100003>

Gleerup, K.B., Forkman, B., Lindegaard, C., Andersen, P.H., 2015. An equine pain face. *Vet. Anaesth. Analg.* 42, 103–114. <https://doi.org/10.1111/vaa.12212>
Halsberghe, B.T., 2017. Long-Term and Immediate Effects of Whole Body Vibration on Chronic Lameness in the Horse: A Pilot Study. *J. Equine Vet. Sci.* 48, 121-128.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.12.007>

Halsberghe, B.T., Gordon-Ross, P., Peterson, R., 2017. Whole body vibration affects the cross-sectional area and symmetry of the m. multifidus of the thoracolumbar spine in the horse. *Equine Vet. Educ.* 29, 493–499. <https://doi.org/10.1111/eve.12630>

Hellhammer, D.H., Wüst, S., Kudielka, B.M., 2009. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology* 34, 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2008.10.026>

Hennes, N., Briant, C., Lorcet, C., Ruet, A., Lansade, L., 2024. Behaviours exhibited during training predict physical tiredness in harness trotter horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 274. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2024.106245>

Huang, C.C., Tseng, T.L., Huang, W.C., Chung, Y.H., Chuang, H.L., Wu, J.H., 2014. Whole-body vibration training effect on physical performance and obesity in mice. *Int. J. Med. Sci.* 11, 1218–1227. <https://doi.org/10.7150/ijms.9975>

Hyypä, S., 2005. Endocrinal responses in exercising horses, in: *Livestock Production Science*. Elsevier, pp. 113–121. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.11.014>

² This chapter corresponds to a scientific article submitted to *Applied Animal Behavior Science*

Ijichi, C., Wilkinson, A., Riva, M.G., Sobrero, L., Dalla Costa, E., 2023. Work it out: Investigating the effect of workload on discomfort and stress physiology of riding school horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 267. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2023.106054>

Jamal, A., Ahmad, I., Ahamed, N., Azharuddin, M., Alam, F., Hussain, M.E., 2020. Whole body vibration showed beneficial effect on pain, balance measures and quality of life in painful diabetic peripheral neuropathy: a randomized controlled trial. *J. Diabetes Metab. Disord.* 19, 61–69. <https://doi.org/10.1007/s40200-019-00476-1>

Kale, M., Tolali, A.B., Togram, T., Basoglu, U.D., 2024. Acute effects of whole-body vibration during dynamic lunge movement on jump and sprint performances. *Pedagogy of Physical Culture and Sports* 28, 309–319. <https://doi.org/10.15561/26649837.2024.0408>

Lansade, L., Nowak, R., Lainé, A.L., Leterrier, C., Bonneau, C., Parias, C., Bertin, A., 2018. Facial expression and oxytocin as possible markers of positive emotions in horses. *Sci. Rep.* 8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32993-z>

Luo, X., Zhang, J., Zhang, C., He, C., Wang, P., 2017. The effect of whole-body vibration therapy on bone metabolism, motor function, and anthropometric parameters in women with postmenopausal osteoporosis. *Disabil. Rehabil.* 39, 2315–2323. <https://doi.org/10.1080/09638288.2016.1226417>

Maher, K. E. (2016). The effect of whole body vibration on bone density and other parameters in the exercising horse (Master's thesis, Middle Tennessee State University).

Masko, M., Domino, M., Lewczuk, D., Jasinski, T., Gajewski, Z., 2020. Horse behavior, physiology and emotions during habituation to a treadmill. *Animals* 10. <https://doi.org/10.3390/ani10060921>

Massányi, M., Halo, M., Mlyneková, E., Kováčiková, E., Tokárová, K., Greň, A., Massányi, P., 2023. The effect of training load stress on salivary cortisol concentrations, health parameters and hematological parameters in horses. *Heliyon* 9. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19037>

Mullard, J., Berger, J.M., Ellis, A.D., Dyson, S., 2017. Development of an ethogram to describe facial expressions in ridden horses (FEReq). *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 18, 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2016.11.005>

Nowlin, C., Nielsen, B., Mills, J., Robison, C., Schott, H., Peters, D., 2018. Acute and Prolonged Effects of Vibrating Platform Treatment on Horses: A Pilot Study. *J. Equine Vet. Sci.* 62, 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.12.009>
 Oroszi, T., Felszeghy, K., Luiten, P.G.M., Schoemaker, R.G., van der Zee, E.A., Nyakas, C., 2024. Whole body vibration ameliorates anxiety-like behavior and memory functions in 30 months old senescent male rats. *Heliyon* 10. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26608>

² This chapter corresponds to a scientific article submitted to Applied Animal Behavior Science

- Oroszi, T., Geerts, E., de Boer, S.F., Schoemaker, R.G., van der Zee, E.A., Nyakas, C., 2022. Whole Body Vibration Improves Spatial Memory, Anxiety-Like Behavior, and Motor Performance in Aged Male and Female Rats. *Front. Aging Neurosci.* 13. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.801828>
- Peng, G., Yang, L., Wu, Chong Y., Zhang, L.L., Wu, Chun Y., Li, F., Shi, H.W., Hou, J., Zhang, L.M., Ma, X., Xiong, J., Pan, H., Zhang, G.Q., 2021. Whole body vibration training improves depression-like behaviors in a rat chronic restraint stress model. *Neurochem. Int.* 142. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2020.104926>
- Sales, N.A.A., Carvalho, J.R.G., Littiere, T.O., Costa, G.B., Silva, A.C.Y., Rodriguez, I.D.M., Castro, C.M., Anjos, L.S., Ottati, A.C.M., Alcaide, J.A., Ramos, G. V., Ferraudo, A.S., Santos, I.F.C., Ferraz, G.C., 2025. A single session of whole-body vibration did not affect cardiovascular autonomic recovery after a high intensity exercise in horses. *J. Equine Vet. Sci.* 151. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2025.105631>
- Silva, B.M. da, Santos, I.F.C. dos, Rahal, S.C., Dadalto, C., Nagai, L.R., Tsunemi, M., Neto, F.J.T., Mamprim, M.J., 2020. Effects of Whole-Body Vibration in Hematobiochemical and Hemogasometric Parameters in Adult and Elderly Healthy Dogs. *Acta Sci. Vet.* 48. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.105418>
- Sugg, S.J., 2018. EFFECTS OF WHOLE BODY VIBRATION ON LAMENESS, STRIDE LENGTH, CORTISOL, AND OTHER PARAMETERS IN HEALTHY HORSES.
- Tannus, F.C.I., Rahal, S.C., Oba, E., Tsunemi, M., Silva, B.M., Almeida, K.C., Santos, I.F.C., 2021. Serum Cortisol and Clinical Response to a Single Session of Whole-Body Vibration in Healthy Adult Dogs. *Front. Vet. Sci.* 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.563898>
- Torcivia, C., McDonnell, S., 2021. Equine discomfort ethogram. *Animals.* <https://doi.org/10.3390/ani11020580>
- Trindade, P.H.E., Hartmann, E., Keeling, L.J., Andersen, P.H., Ferraz, G.D.C., Da Costa, M.J.R.P., 2020. Effect of work on body language of ranch horses in Brazil. *PLoS One* 15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228130>
- van Bömmel-Wegmann, S., Gehlen, H., Barton, A.K., Büttner, K., Zentek, J., Paßlack, N., 2023. Zinc Status of Horses and Ponies: Relevance of Health, Horse Type, Sex, Age, and Test Material. *Vet. Sci.* 10. <https://doi.org/10.3390/vetsci10040295>
- Wathan, J., Burrows, A.M., Waller, B.M., McComb, K., 2015. EquiFACS: The equine facial action coding system. *PLoS One* 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131738>
- Werner, L.C., de Oliveira, G.M., Daros, R.R., Costa, E.D., Michelotto, P. V., 2024. Enhancing the Horse Grimace Scale (HGS): Proposed updates and anatomical

² This chapter corresponds to a scientific article submitted to Applied Animal Behavior Science

descriptors for pain assessment. *Veterinary Journal* 307.
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2024.106223>

Young, T., Creighton, E., Smith, T., Hosie, C., 2012. A novel scale of behavioural indicators of stress for use with domestic horses. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 140, 33–43.
<https://doi.org/10.1016/j.applanim.2012.05.008>