

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA NA
AVALIAÇÃO DA INFLAMAÇÃO EM EQUINOS**

Ivan Dario Martinez Rodriguez

Médico Veterinário Zootecnista

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA NA
AVALIAÇÃO DA INFLAMAÇÃO EM EQUINOS**

Discente: Ivan Dario Martinez Rodriguez

Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

2024

D218v

Dario Martinez Rodriguez, Ivan

Variabilidade da frequência cardíaca na avaliação da inflamação em equinos / Ivan Dario Martinez Rodriguez. -- Jaboticabal, 2024
52 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Guilherme de Camargo Ferraz

1. Balanço simpátovagal. 2. Dor. 3. Bem-estar. 4. Variabilidade da
frequência cardíaca. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA NA AVALIAÇÃO DA INFLAMAÇÃO EM EQUINOS

AUTOR: IVAN DARIO MARTINEZ RODRIGUEZ


ORIENTADOR: GUILHERME DE CAMARGO FERRAZ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal, área: Fisiologia e Bem Estar Animal pela Comissão Examinadora:


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

Documento assinado digitalmente
 **GUILHERME DE CAMARGO FERRAZ**
Data: 11/10/2024 14:33:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.Dr. WALTER HEINZ FERINGER JUNIOR (Participação Virtual)
Universidade Metropolitana de Santos (UNIMES) / Santos/SP

Documento assinado digitalmente
 **WALTER HEINZ FERINGER JUNIOR**
Data: 10/10/2024 19:52:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. LIZANDRA AMOROSO (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
 **LIZANDRA AMOROSO**
Data: 11/10/2024 12:25:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 09 de outubro de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Ivan Dario Martinez Rodriguez, nascido em 22 de dezembro de 1993, em Ibagué, Tolima, Colômbia, filho de Rosa Emilia Martinez. Graduou-se em Medicina Veterinária e Zootecnia pela Universidade do Tolima em 2018. De julho de 2017 a dezembro de 2018, realizou estágio no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais. Em 2020, fez especialização em Medicina Homeopática Veterinária pela Universidade Luís G. Paez. Atualmente, é mestrando no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal, sob a orientação do Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz. Durante o mestrado, foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

"A ciência progride mais quando se dá maior importância à imaginação do que ao conhecimento." Albert Einstein

"A ciência é a poesia da realidade." – Richard Dawkins

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer à minha família, meu irmão Diego, minha irmã Victoria e minha mãe, que sempre me apoiaram durante este processo e nesta jornada longe de casa. Eles estiveram sempre ao meu lado, me dando ânimo nos momentos em que mais precisei. Minha irmã sempre me encorajou, dizendo para não desistir e me apoiou em todos os momentos. Devo muito a ela, e esta conquista também é, em parte, graças a ela. À minha mãe, que sempre me ofereceu palavras de incentivo. Parte desse grande processo também foi possível com o apoio da minha parceira, Catalina Bastidas Peña, que me motivou e acompanhou, mesmo à distância, durante um período difícil.

Também devo agradecer a uma pessoa que conheci e que abriu as portas para esse novo nível acadêmico em minha vida, o qual só se concretizou graças a ele. Essa pessoa é o professor Guilherme de Camargo Ferraz. Sem ele, esta nova etapa da minha vida não teria sido possível. A ele devo grande parte do meu progresso acadêmico. Sou grato por me dar a oportunidade de estar nesta maravilhosa universidade. Desde o primeiro dia em que fiz minha entrevista com ele, percebi que era uma pessoa excepcional. Além de ser meu orientador, ele se tornou para mim um grande amigo e profissional.

Agradeço à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp Câmpus de Jaboticabal, em especial ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, e ao Setor de Equinocultura, pelas oportunidades que me foram dadas, pelo empréstimo dos animais, equipamentos e instalações para a realização deste trabalho.

Agradeço ao grupo do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Exercício Equino - LAFEQ, que foi de grande apoio durante este processo e se tornou uma verdadeira família para mim: Thayssa, Julia, Nathali, Catarina e Ana Carolina, muito obrigado, turma!

Gostaria de agradecer ao meu amigo e irmão, Guilherme Barbosa da Costa, que durante este processo se tornou um grande amigo e parte da minha família. Um grande brasileiro que hoje é mais colombiano do que a arepa. Ele foi um grande apoio nos momentos difíceis, sempre com muita paciência para me ajudar a entender

melhor as coisas, respondendo às minhas perguntas e dúvidas com dedicação e vontade. Um abraço, meu amigo.

Agradeço ao Gabrielito, um excelente profissional e amigo de quem aprendi muito. Ele também teve muita paciência para me ensinar, sempre demonstrando o amor que tem pela cardiologia. Sou grato por todo o tempo que ele dedicou para me explicar.

Agradeço ao Don Deco e às pessoas do setor de equinos, que sempre fizeram parte da minha família e do meu processo. Só me resta agradecer ao Departamento de Morfologia e Fisiologia.

À professora Luciane, do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, uma excelente profissional que tive a sorte de conhecer. Além disso, percebi que é uma pessoa extraordinária. Ela me ajudou muito, e aprendi imensamente com ela.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de Mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pelo financiamento deste projeto de pesquisa.

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

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	1
1.1 INTRODUÇÃO	1
1.2 REVISÃO DE LITERATURA	3
1.2.1 Dor	3
1.2.2 Bem-Estar Animal	4
1.2.3 Meloxicam	5
1.2.4 Variabilidade da frequência cardíaca	6
REFERÊNCIAS	8
CAPÍTULO 2 - Controle autonômico em equinos que receberam administração oral preventiva de meloxicam e submetidos à indução de sinovite transitória	14
RESUMO	14
ABSTRACT	16
2.1 INTRODUÇÃO	18
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	21
2.2.1 Animais	21
2.2.2 Grupos experimentais	21
2.2.3 Preparação da LPS	22
2.2.4 Indução da sinovite transitória	23
2.2.5 Aplicação de anti-inflamatório	24
2.2.6 Determinação da variabilidade da frequência cardíaca	24
2.2.7 Análise estatística	26
2.3 RESULTADOS	27
2.3.1 Avaliação das Variáveis de Domínio do Tempo de 5 Minutos	27
2.3.2 Avaliação das Variáveis de Domínio do Tempo de 30 Minutos	27
2.3.3 Avaliação das Variáveis de Domínio da Frequência em 5 Minutos	27
2.3.4 Avaliação Domínio da Frequência - 30 Minutos	28
2.4 DISCUSSÃO	44
2.5 CONCLUSÃO	46
2.6 REFERÊNCIAS	47
CAPÍTULO 3: Considerações Finais	51
3.1 Impacto potencial desta pesquisa	51
3.2 Potential impact of this research	52

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



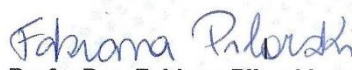
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado “**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA ANTI-INFLAMATÓRIA DE UM PRODUTO A BASE DE MELOXICAM ADMINISTRADO POR VIA ORAL EM EQUINOS**” protocolo nº 2887/2021, 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 “*Ad referendum*” pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP.

Vigência do Projeto	25/10/2021 a 31/12/2021
Espécie / Linhagem	Equina
Nº de animais	6
Peso / Idade	350 a 450 kg
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	FCAV

Jaboticabal, 22 de outubro de 2021.


Profa. Dra. Fabiana Pilarski
 Coordenadora – CEUA

LISTA DE ABREVIATURAS

ACI: Intermediate carpal joint

AINES: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)

AIS: Synovitis

ASR: Respiratory sinus arrhythmia

COX: Cyclooxygenase

ECG: Electrocardiogram

EU: Endotoxin units (EU)

FC: Heart rate (HR)

FFT: Fourier transform

FFT/HF (n.u): Fast Fourier Transform High Frequency normalized units

FFT/LF (n.u): Fast Fourier Transform Low Frequency normalized units

FFT/LF (ms²): Fast Fourier Transform Low Frequency milliseconds squared

FFT/HF (ms²): Fast Fourier Transform High Frequency milliseconds squared

HF: High frequency

LF: Low frequency

LF/HF: Low-to-high frequency ratio

VFC: Heart rate variability (HRV)

LPS: Lipopolysaccharides

SNA: Autonomic nervous system (ANS)

SNPs: Parasympathetic nervous system (PNS)

Média RR: Mean RR intervals from an electrocardiogram

SDNN: Standard deviation of RR intervals

RMSSD: Root mean square of successive RR interval differences

P: p-value

SD: Standard deviation

LISTA DE ABREVIATURAS

ACI: Articulação carpal intermediária

AINES: Anti-inflamatórios não esteroides (AINEs)

AIS: Sinovite

ASR: Arritmia sinusal respiratória

COX: Ciclooxigenase

ECG: Eletrocardiograma

FC: Frequência cardíaca (FC)

FFT: Transformada de Fourier

FFT/HF (n.u): Transformada de Fourier Alta Frequência unidades normalizadas

FFT/LF (n.u): Transformada de Fourier Baixa Frequência unidades normalizadas

FFT/LF (ms²): Transformada de Fourier Baixa Frequência milissegundos ao quadrado

FFT/HF (ms²): Transformada de Fourier Alta Frequência milissegundos ao quadrado

HF: Alta frequência

LF: Baixa frequência

LF/HF: Relação baixa frequência/alta frequência

VFC: Variabilidade da frequência cardíaca (VFC)

LPS: Lipopolissacarídeos

SNA: Sistema nervoso autônomo (SNA)

SNPs: Sistema nervoso parassimpático (SNP)

Média RR: Intervalos médios RR do eletrocardiograma

SDNN: Desvio padrão dos intervalos RR

RMSSD: Raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças sucessivas dos intervalos RR

P: Valor de p

SD: Desvio padrão

UE: Unidades de endotoxinas (UE)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Variáveis no domínio do tempo	25
Tabela 2: Variáveis Geométricas.....	25
Tabela 3: Domínio da Frequência.....	26
Tabela 4: Variáveis não lineares da variabilidade de frequência cardíaca (VFC).....	26
Tabela 5: Valores médios \pm erro padrão das métricas do domínio do tempo registradas em um curto período de 5 minutos em cavalos submetidos à indução experimental de sinovite transitória pela injeção de 10 EU de LPS de E. coli 055:B5 na articulação do carpo médio e tratados preventivamente com AINEs	29
Tabela 6: Valores médios \pm erro padrão (EP) das métricas do domínio do tempo registradas em um período curto de 30 minutos em cavalos submetidos à indução experimental de sinovite transitória pela injeção de 10 EU de LPS de E. coli055:B5 na articulação do carpo médio.	30
Tabela 7: Valores médios \pm erro padrão da média (EPM) das métricas do domínio da frequência e não lineares registradas em um período curto de 5 minutos em cavalos submetidos à indução experimental de sinovite transitória pela injeção de 10 EU de LPS de E. coli 055:B5 na articulação do carpo médio.....	31
Tabela 8: Valores médios \pm erro padrão da média (EPM) das métricas do domínio da frequência e não lineares registradas em um período curto de 30 minutos em cavalos submetidos à indução experimental de sinovite transitória pela injeção de 10 EU de LPS de E. Coli 055:B5 na articulação do carpo médio.....	32

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Média e erro padrão das variáveis do domínio de frequência relacionadas às análises de AR. A: LF 5 min; B: HF 5 min; C: LF (n.u) 5 min; D: HF (n.u) 5 min; E: LF/HF (ms^2) 5 min. Nenhuma diferença estatística foi encontrada entre os grupos..33
- Figura 2:** Média e erro padrão das variações do domínio de frequência relacionadas às análises de AR. A: LF 30 min; B: HF 30 min; C: LF (n.u) 30 min; D: HF (n.u) 30 min; E: LF/HF (ms^2) 30 min. * Representa diferença estatística entre os grupos experimentais.34
- Figura 3:** Média e erro padrão das variáveis do domínio de frequência relacionadas às análises da TFF. A: LF (ms^2) 5 min; B: HF (ms^2) 5 min; C: LF (n.u) 5 min; D: HF (n.u) 5 min; E: LF/HF (ms^2) 5 min. Não foram evidenciadas diferenças estatísticas. 35
- Figura 4:** Média e erro padrão das variáveis do domínio da frequência relacionadas às análises do TFF. A: LF (ms^2) 30 min; B: HF (ms^2) 30 min; C: LF (n.u) 30 min; D: HF (n.u) 30 min; E: LF/HF (ms^2) 30 min. * Representa diferença estatística entre os grupos experimentais36
- Figura 5:** Média e erro padrão da média das variáveis do domínio do tempo relacionadas às análises das diferentes variáveis. A: Min HR. (Beats) 5 min; B: Mean RR (ms) 5 min; C: Mean HR (Beats) 5 min; D: Peak (pico) HR (Beats) 5 min. * Representa diferença estatística entre os grupos experimentais.....37
- Figura 6:** Média e erro padrão das variáveis do domínio do tempo relacionadas às análises das diferentes variáveis. A: Mín HR. (Beats) 30 min; B: Mean RR (ms) 30 min; C: Mean HR (Beats) 30 min; D: Peak (Pico) HR (Beats) 30 min. * Representa diferença estatística entre os grupos experimentais.38
- Figura 7:** Média e erro padrão da média das variáveis do domínio do tempo relacionadas às análises das diferentes variáveis. A: Triangular HRV 5 min; B: Stress Index 5 min; C: STD HR 5 min; D: TINN 5 min.* Representa diferença estatística entre os grupos experimentais.39
- Figura 8:** Média e erro padrão da média das variáveis do domínio do tempo relacionadas às análises das diferentes variáveis. A: HRV triangular 30 min; B: Índice de estresse 30 min; C:STD HR 30 min; D: TINN 30 min.....40

Figura 9: Média e erro padrão das variáveis do domínio do tempo relacionadas às análises das diferentes variáveis. A: SDNN (ms) 5 min; B: RMSSD (ms) 5 min; C: NN50 (ms) 5 min; D: PNN50 (ms) 5 min.	41
Figura 10: Média e erro padrão da média das variáveis do domínio do tempo relacionadas às análises das diferentes variáveis. A: SDNN (ms) 30 min; B: RMSSD (ms) 30 min; C: NN50 (ms) 30 min; D: PNN50 (ms) 30 min. *Representa diferença estatística entre os grupos experimentais.	42
Figura 11: Média e erro padrão da análise das variáveis não lineares das diferentes variáveis comparando dois tempos de 5 e 30 minutos. A: SD1 (ms) 5 min; B: SD1 (ms) 30 min; C: SD2 (ms) 5 min; D: SD2 (ms) 30 min. * Representa diferença estatística entre os grupos experimentais.	43

VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA NA AVALIAÇÃO DA INFLAMAÇÃO EM EQUINOS

RESUMO

Os cavalos, como animais de presa, desenvolveram mecanismos para mascarar sinais de dor e estresse, o que dificulta sua identificação precoce e representa um desafio clínico significativo. A dor, uma experiência sensorial e emocional associada a dano tisular, é um indicador vital do bem-estar físico e emocional. Para diagnosticar e monitorar a dor em equinos, ferramentas não invasivas são essenciais, permitindo avaliar estados fisiológicos, inflamatórios e neurológicos, além de verificar a eficácia de tratamentos analgésicos e prevenir a progressão de condições agudas para crônicas.

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) destaca-se como um marcador útil, refletindo a interação entre os sistemas nervosos simpático e parassimpático, além de alterações nos intervalos RR. Mudanças na VFC indicam respostas autonômicas ao estresse e à dor, contribuindo para uma gestão mais precisa e ética do bem-estar equino. O objetivo deste estudo foi caracterizar a VFC em cavalos com quadro de dor ortopédica transitória.

Utilizaram-se 6 equinos distribuídos aleatoriamente em um ensaio do tipo 'crossover', com dois grupos experimentais (Controle-GC e Meloxicam-GM). Induziu-se sinovite transitória na região do carpo intermediário por meio da administração intra-articular de lipopolissacarídeo (LPS) oriundo da *E. coli* 055:B5, na dose de 10 unidades, sendo que o grupo GM foi premedicado com 0,6 mg/kg de meloxicam. Em seguida, a VFC foi avaliada durante 5 ou 30 minutos em seis etapas: M0, M2, M4, M8, M24 e M48 horas após a aplicação do LPS. Os dados de VFC foram processados no software Kubios. Aplicou-se análise de variância para medidas repetidas no tempo, seguida pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Houve alteração nas variáveis RR, alta frequência (HF) em unidades normalizadas (n.u.), baixa frequência (LF), relação entre baixa frequência (LF) e alta frequência (HF) LF/HF (ms^2), transformada rápida de Fourier da baixa frequência (FFT-LF, n.u.), transformada rápida de Fourier da alta frequência (FFT-HF, n.u.),

transformada rápida de Fourier da alta frequência (FFT-HF, ms^2) e transformada rápida de Fourier da relação entre baixa frequência (LF) e alta frequência (HF) FFT-LF/HF (ms^2). A elevação na HF pode indicar maior tônus simpático, refletindo um possível cenário doloroso. A média elevada dos intervalos RR e LF indica predominância do tônus simpático e eficácia do meloxicam no controle da inflamação e dor. A VFC, tanto no domínio da frequência quanto no domínio do tempo, pode estimar o controle da dor em equinos submetidos à indução transitória de sinovite.

Palavras-chave: balanço simpatovagal, dor, bem-estar, variabilidade da frequência cardíaca.

HEART RATE VARIABILITY IN THE EVALUATION OF INFLAMMATION IN HORSES

ABSTRACT

Horses, as prey animals, have developed mechanisms to mask signs of pain and stress, making early identification difficult and posing a significant clinical challenge. Pain, a sensory and emotional experience associated with tissue damage, is a vital indicator of physical and emotional well-being. Non-invasive tools are essential for diagnosing and monitoring pain in horses, allowing for the assessment of physiological, inflammatory, and neurological states, as well as the evaluation of the effectiveness of analgesic treatments and the prevention of the progression from acute to chronic conditions. Heart rate variability (HRV) emerges as a useful marker, reflecting the interaction between the sympathetic and parasympathetic nervous systems and changes in RR intervals. Changes in HRV indicate autonomic responses to stress and pain, contributing to more accurate and ethical management of equine well-being. This study aimed to characterize HRV in horses with a transient orthopedic pain condition.

Six horses were randomly assigned in a crossover trial design into two experimental groups (Control-GC and Meloxicam-GM). Transient synovitis was induced in the intermediate carpal joint by intra-articular administration of lipopolysaccharide (LPS) from *E. coli* 055:B5 at a dose of 10 units, with the GM group being premedicated with 0.6 mg/kg of meloxicam. HRV was then evaluated for 5 or 30 minutes at six time points: M0, M2, M4, M8, M24, and M48 hours after LPS administration. HRV data were processed using Kubios software. A repeated measures analysis of variance followed by Tukey's test ($P < 0.05$) was applied.

Changes were observed in the RR intervals, high frequency (HF) normalized units (n.u.), low frequency (LF), the ratio of low frequency to high frequency (LF/HF, ms^2), Fast Fourier Transform low frequency normalized units (FFT-LF n.u.), Fast Fourier Transform high frequency normalized units (FFT-HF n.u.), Fast Fourier Transform high frequency in milliseconds squared (FFT-HF ms^2), and Fast Fourier

Transform low frequency to high frequency ratio (FFT-LF/HF ms²). Increased HF may indicate higher parasympathetic tone, reflecting a possible painful scenario. The elevated mean RR intervals and LF suggest a predominance of sympathetic tone and the effectiveness of meloxicam in controlling inflammation and pain. HRV, both in the frequency and time domains, can estimate pain control in horses subjected to transient synovitis induction

Keywords: sympathovagal balance, pain, well-being, heart rate variability.

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1.1 INTRODUÇÃO

O cavalo é uma espécie que sempre foi presa na natureza. Mesmo com a domesticação, é evidente o instinto de expressar o menor número possível de sinais de dor para evitar predadores (Forster et al., 2012).

As lesões ortopédicas são relevantes, sendo uma das principais causas de desconforto em cavalos. Além disso, representam uma causa evidente de redução do bem-estar, comumente tratadas com anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (Santos Júnior et al., 2022). Os AINEs desempenham um papel importante no manejo da dor. Duas isoformas clinicamente importantes de ciclooxigenase (Cox) são conhecidas por estarem presentes no tecido equino. A ciclooxigenase-1 (Cox-1) tem a função de controlar a homeostase fisiológica gastrointestinal, renal e vascular, produzindo prostaglandinas necessárias para sua modulação. Já a ciclooxigenase-2 (Cox-2), descrita em 1992, está presente, principalmente, no cérebro e na medula espinhal (Jacobs et al., 2022a)

Os fármacos comumente utilizados para o controle de processos inflamatórios e dolorosos em cavalos são os anti-inflamatórios esteroidais (AIEs) e não esteroidais (AINEs). Os AIEs e AINEs inibem, respectivamente, a fosfolipase A2 e a enzima ciclooxigenase (COX), as quais são responsáveis pela conversão do ácido araquidônico em eicosanoides, como prostaglandinas, tromboxanos e prostaciclina (Urayama et al., 2023).

O bloqueio da produção dessas substâncias causa efeito anti-inflamatório e analgésico. Essencialmente, os AINEs são considerados anti-inflamatórios devido ao bloqueio da produção de prostaglandinas (Mercer et al., 2023).

Dois isoformas da enzima ciclooxigenase são caracterizadas: ciclooxigenase-1 (COX-1) e ciclooxigenase-2 (COX-2). A COX-1 é expressa constitutivamente nos tecidos do organismo e atua principalmente em funções fisiológicas, enquanto a COX-2 é uma enzima induzida, principalmente, por estímulos inflamatórios. Portanto, é possível reduzir a toxicidade dos anti-inflamatórios não esteroidais utilizando fármacos inibidores seletivos mais específicos para a enzima COX-2 (Banse e Cribb, 2017).

AINEs são administrados em cavalos para o tratamento sintomático de várias enfermidades sistêmicas ou locais. Os inibidores seletivos da COX-2 são preferidos devido ao menor risco de efeitos adversos, como gastrite. O meloxicam é um AINE utilizado frequentemente na espécie equina, com destaque para a redução da resposta inflamatória em afecções do sistema musculoesquelético (Mendoza et al., 2019; Water et al., 2021). Algumas formulações orais de meloxicam foram avaliadas em cavalos, em que foi observada uma redução significativa de mediadores inflamatórios, como a substância P e a atividade da metaloproteinase da matriz, no líquido sinovial (de Grauw, van de Lest, Brama, et al., 2009).

A dor é o principal indicador de redução do bem-estar em seres sencientes, verbais e não verbais, sendo um fenômeno sensorial e emocional aversivo que representa dano ou ameaça à integridade celular do animal, gerando alterações fisiológicas e comportamentais (Muir, 2010). A evolução, monitoramento e melhoria do bem-estar animal dependem de ferramentas de medição confiáveis e válidas, que podem incluir indicadores fisiológicos, psicológicos, comportamentais e clínicos (Descovich et al., 2017)

Sendo a dor uma grande preocupação na medicina veterinária equina, o seu reconhecimento precoce pode melhorar o bem-estar e prevenir outras doenças incapacitantes para a espécie (Rashid et al., 2020). A exposição constante a situações dolorosas diminui o bem-estar e ocasiona variações fisiológicas e comportamentais como resposta negativa e inflamatória ao dano tecidual, refletindo na forma como o animal lida com as mudanças no ambiente devido à alteração do sistema imune e do eixo neuroendócrino. Com isso, há secreção de substâncias como adrenalina, noradrenalina, cortisol e catecolaminas (Hernández-Avalos, Mota-Rojas, et al., 2021a)

O uso da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) tem sido estudado para a prevenção de doenças cardíacas (Dong, 2016) e na implementação de protocolos de eutanásia em cavalos, empregando um protocolo padrão em diferentes situações, destacando a cólica como a mais difícil e indicando a modificação do protocolo devido às variações na diminuição da VFC (Gehlen et al., 2020). A VFC foi recentemente implementada para avaliar o controle autonômico e as reações de dor, especialmente em animais que se comunicam não verbalmente, utilizando equipamentos que monitoram os intervalos R-R (Stucke et al., 2015a).

De acordo com Basbaum et al. (2009), a dor pode ser classificada como aguda, sendo detectada pelo sistema nervoso a partir de estímulos mecânicos, térmicos, químicos, exógenos e irritantes. Quando os estímulos são intensos, geram dor aguda resultante da ativação imediata de sistemas nociceptores periféricos específicos. A dor crônica, por sua vez, não possui função protetora, apresentando sintomas comportamentais e cognitivos evidentes. Quando comparada à dor aguda, ela é persistente, podendo durar muito tempo após a lesão ou até na ausência de uma lesão visível. Além disso, é difícil de tratar e frequentemente associada a sintomas neuropáticos (Hernández-Avalos, Flores-Gasca, et al., 2021). A evolução, monitoramento e melhoria do bem-estar animal dependem de ferramentas de medição confiáveis e válidas, que podem incluir indicadores fisiológicos, psicológicos, comportamentais e clínicos (Descovich et al., 2017). Sendo a dor uma grande preocupação na Medicina Veterinária Equina, o reconhecimento precoce da dor pode melhorar o bem-estar e prevenir outras doenças incapacitantes para a espécie (Rashid et al., 2020).

Este estudo visou (1) avaliar as respostas simpátovagais dentro dos parâmetros da variabilidade da frequência cardíaca, com a implementação de AINEs de forma preventiva em um modelo de indução transitória de sinovite em equinos; (2) contribuir com a utilização da VFC para a identificação da mitigação da dor inflamatória em equinos.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 Dor

A International Association for the Study of Pain (IASP) define a dor como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a possível dano tecidual ou descrita em relação a tal dano (Desantana et al., 2020). De acordo com Basbaum et al. (2009), a dor pode ser classificada como aguda, sendo detectada pelo sistema nervoso a partir de estímulos mecânicos, térmicos, químicos, exógenos e irritantes. Quando esses estímulos são intensos, geram dor aguda, resultante da ativação imediata de sistemas nociceptores periféricos específicos. A dor crônica não tem

função protetora, com sintomas psicológicos mais marcantes quando comparada à dor aguda, sendo persistente e com duração prolongada após a lesão, ou, às vezes, na ausência dela. É refratária ao tratamento e pode estar associada a sintomas psicológicos ou neuropáticos (Hernández-Avalos et al., 2021b).

O estímulo nociceptivo e a estimulação produzida no tálamo por substâncias como acetilcolina e citocinas podem gerar um impulso nos neurônios reticulares, excitando o sistema nervoso autônomo, o que ocasiona taquicardia e estimulação do sistema respiratório, provocando aumento do tempo entre os picos dos intervalos R-R, que é a distância entre dois batimentos cardíacos consecutivos, induzindo alteração na VFC (Priest, 2002). Quando os estímulos mencionados acima atingem uma intensidade nociva, sugestiva de lesão persistente, eles são detectados pelos nociceptores, uma subpopulação de fibras nervosas periféricas e centrais encontradas na pele, articulações, vísceras, ossos e músculos dos órgãos (de Grauw & van Loon, 2016).

A via de transmissão da dor apresenta grande plasticidade neuronal periférica, o que amplifica os sinais de dor e produz hipersensibilidade. A plasticidade facilita os reflexos protetores, sendo benéfica para o indivíduo, mas quando as alterações persistem, pode ocorrer o quadro de dor crônica (Chen & Sehdev, 2019).

1.2.2 Bem-Estar Animal

O bem-estar animal é entendido como o estado físico e emocional do animal. Para a Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA), é definido como o modo como um animal lida com as condições em que vive. Uma versão ligeiramente diferente define o bem-estar como o estado físico e psicológico de um animal em relação à sua tentativa de lidar com o ambiente (Broom, 2016). Assim, o bem-estar inclui traços físicos ou fisiológicos que podem ser medidos e componentes psicológicos que devem ser avaliados comportamentalmente (Beaver, 2019).

Existem diversas escalas para avaliação da dor em cavalos, que facilitam a mensuração do bem-estar. Essas escalas incluem a observação de sinais como postura, expressão facial, sensibilidade ao toque, comportamento geral e dores musculoesqueléticas (Auer et al., 2023).

Mudanças na postura e no comportamento locomotor são importantes indicadores de bem-estar em cavalos. Avaliar a marcha e a postura por meio de técnicas como cinemática e testes de flexão pode ajudar a identificar sinais de dor ou desconforto (de Grauw & van Loon, 2016).

1.2.3 Meloxicam

O meloxicam (MX) é um fármaco frequentemente utilizado na prática clínica equina, devido ao seu efeito anti-inflamatório preferencial na inibição da COX-2 (Urayama et al., 2019). São conhecidas duas isoformas de COX clinicamente importantes encontradas no tecido equino: a ciclooxigenase-1 (COX-1) e a ciclooxigenase-2 (COX-2). A COX-1 controla a homeostase fisiológica gastrointestinal, renal e vascular, através da produção de prostaglandinas necessárias para sua modulação. A COX-2, descrita em 1992, está presente principalmente no cérebro e na medula espinhal, sendo uma enzima induzida principalmente por estímulos inflamatórios. Portanto, é possível reduzir a toxicidade dos anti-inflamatórios não esteroidais utilizando fármacos inibidores seletivos mais específicos da enzima COX-2 (Class of et al., 2017).

Um estudo farmacocinético recente utilizou uma formulação oral de MX (Mendoza et al., 2019), a qual foi administrada no início da manhã, entre 7 e 9 h, em cavalos saudáveis, em jejum (aproximadamente 12 h) ou alimentados (última refeição 1,5 a 2 h antes da administração). Os autores encontraram tempos para alcançar a concentração sérica máxima ($T_{m\acute{a}x}$) de 1,5 h (1-2 h) e 1,0 h (0,75-1,5 h), respectivamente, sendo que a duração do efeito esperado do meloxicam é evidente na dose de 0,6 mg/kg.

Um experimento conduzido por Olson et al. (2016) avaliou a eficácia anti-inflamatória e analgésica do MX em suspensão oral, administrado em bezerros anilhados e castrados cirurgicamente, em comparação com um grupo controle e soro fisiológico, uma hora antes e após o procedimento. O estudo demonstrou diminuição da inflamação da bolsa escrotal. Além disso, observou-se redução do aparecimento de alterações comportamentais devido à dor e ao estresse em animais castrados, assim como diminuição da frequência cardíaca devido ao controle da dor.

De acordo com Class of et al. (2017), o MX oral (0,6 mg/kg de peso corporal a cada 24 horas) e a fenilbutazona oral (PBZ) (4,4 mg/kg de peso corporal (pc) a cada 12 horas) foram eficientes em dois modelos de dor reversível de curta duração em cavalos. Entre eles, o modelo de ferradura em 'forma de coração', que induz principalmente dor mecânica, e o modelo de sinovite induzida por LPS, que induz principalmente dor inflamatória.

Uma análise demonstrou o efeito in vivo do MX como anti-inflamatório na sinovite transitória equina, na dose de 0,6 mg/kg, via intra-articular. Houve prevenção da replicação de proteases, prostaglandina E2, bradicinina e outros efeitos inflamatórios relacionados à dor no cavalo, em comparação com o placebo (De Grauw et al., 2009)

O MX produziu efeito anti-inflamatório na dose de 0,6 mg/kg, via oral, em comparação com a flunixinina meglumina (FM) na dose de 1,1 mg/kg, em um modelo de inflamação induzida por LPS. Também foi observada a diminuição da temperatura e do cortisol com o uso de meloxicam. Não houve diferença estatística em comparação com a FM, indicando que o meloxicam é eficiente no controle da dor e da inflamação, assim como na síndrome de resposta inflamatória recorrente (SIRS) (Urayama et al., 2023). Toutain e Cester (2004) também observaram que 0,6 mg/kg de meloxicam controla a dor ortopédica em cavalos, com melhora nos parâmetros fisiológicos e inflamatórios, confirmada pela dosagem de leucócitos através de hemograma, cortisol e fator de necrose tumoral (TNF) para avaliar a inflamação

Mercer et al. (2023) analisaram o uso de meloxicam em cavalos como um AINE eficaz e seguro no tratamento da dor e inflamação, especialmente em condições ortopédicas. Destaca-se sua alta biodisponibilidade oral, com picos plasmáticos entre 2 e 4 horas, ligação às proteínas plasmáticas superior a 98%, metabolismo hepático e excreção biliar. Sua ação seletiva sobre a COX-2 reduz a síntese de prostaglandinas inflamatórias, diminuindo o risco de efeitos secundários relacionados à COX-1, e permite um controle eficiente da dor aguda e crônica.

1.2.4 Variabilidade da frequência cardíaca

A frequência cardíaca é um indicador vital da integridade cardiovascular, enquanto a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é uma importante medida

quantitativa da regulação cardiovascular pelo sistema nervoso autônomo (Barbieri et al., 2005). A VFC é um conjunto de dados derivados do eletrocardiograma (ECG), sendo estudada há mais de 170 anos. Atualmente, está em rápida evolução, devido à expansão do setor de tecnologia médica. A análise tradicional da VFC foi inicialmente realizada para identificar alterações no equilíbrio vago-simpático (Mitchell e Schwarzwald, 2021).

De acordo com um estudo em equinos (Rietmann et al., 2004), a VFC descreve a variação entre batimentos cardíacos consecutivos de um eletrocardiograma (ECG) ambulatorial, sendo um marcador quantitativo confiável da atividade e integridade do sistema nervoso autônomo, além da interação entre os estados psicológicos e a fisiopatologia das doenças. O recurso minimamente invasivo, mas informativo, do ECG popularizou a utilização e o uso das métricas de VFC, que podem ser divididas em três métodos principais: domínio do tempo, domínio da frequência e análise não linear (Gu et al., 2023). O tempo dos registros do ECG para cálculo da VFC varia amplamente entre os objetivos dos estudos, com base no desenho do estudo e nas características fisiológicas de interesse, sendo utilizado desde o longo prazo (24 h) até o curto prazo (5 min) e o ultra-curto prazo (UST, <5 minutos) (Gu et al., 2023).

As flutuações do período cardíaco estão relacionadas a diversas variáveis fisiológicas. Essas oscilações incluem, por exemplo, a respiração, a pressão arterial, entre outras. Também são conhecidas as alterações que essas flutuações causam nos componentes da VFC relacionados à respiração na banda de baixa frequência (LF), assim como o fato de que as modulações da VFC de baixa frequência não podem ser consideradas uma única expressão mediada ou confiável da atividade simpática. Além disso, é desafiador considerar a respiração como um determinante significativo da VFC de curto prazo (MALIK et al., 2016).

REFERÊNCIAS

- AUER, U.; KELEMEN, Z.; VOGL, C.; VON RITGEN, S.; HADDAD, R.; TORRES BORDA, L.; GABMAIER, C.; BRETELER, J.; JENNER, F.** Development, refinement, and validation of an equine musculoskeletal pain scale. *Frontiers in Pain Research*, v. 4, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpain.2023.1292299>.
- AYALA, M. D.; CARRILLO, A.; INIESTA, P.; FERRER, P.** Pilot study of the influence of equine assisted therapy on physiological and behavioral parameters related to welfare of horses and patients. *Animals*, v. 11, n. 12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11123527>.
- BARBIERI, R.; MATTEN, E. C.; ALABI, A. R. A.; BROWN, E. N.** A point-process model of human heartbeat intervals: New definitions of heart rate and heart rate variability. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, v. 288, n. 1 57-1, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00482.2003>.
- BEAVER, B. V.** Equine Welfare. In *Equine Behavioral Medicine*. Elsevier, 2019. p. 347–369. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812106-1.00011-5>.
- BILLMAN, G. E.** Heart rate variability - A historical perspective. *Frontiers in Physiology*, v. 2, nov. 2011. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2011.00086>.
- BROOM, D. M.** Sentience and animal welfare: New thoughts and controversies. *Animal Sentience*, v. 1, n. 5, 2016. DOI: <https://doi.org/10.51291/2377-7478.1024>.
- CAMPEBELL, R. C.; PEIRÓ, J. R.; ROSA, P. C. S.; VALADÃO, C. A. A.; BECHARA, G. H.** Endotoxemia por lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* em equinos: efeitos de antiinflamatórios nas concentrações séricas e peritoneais do fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, n. 4, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0102-09352007000400003>.
- CHEN, J. (Steven); SEHDEV, J. S.** Physiology, Pain. In: *StatPearls*. 2019.
- CLASS OF, U.; BANSE, H.; CRIBB, A. E.; ATKINSON, B.; BARKER, J.; BOHLENDER, B.; ANNE BRUCE, L.; CLARK, C.; COULOMBE, A.; CZAPSKI, C.; DUVAL, J.; ENGBERS, S.; ENZIE, J.; FICK, L.; FISCHER, C.; FREDERICK, J.; FRIEDT, H.; HODGES, E.; JAKOBSEN, P.; WOROBETS, M.** Comparative efficacy of oral meloxicam and phenylbutazone in 2 experimental pain models in the horse. *CVJ*, v. 58, 2017.
- DE GRAUW, J. C.; VAN DE LEST, C. H. A.; BRAMA, P. A. J.; RAMBAGS, B. P. B.; VAN WEEREN, P. R.** In vivo effects of meloxicam on inflammatory mediators, MMP activity and cartilage biomarkers in equine joints with acute synovitis. *Equine Veterinary Journal*, v. 41, n. 7, 2009. DOI: <https://doi.org/10.2746/042516409X436286>.
- DE GRAUW, J. C.; VAN DE LEST, C. H. A.; VAN WEEREN, P. R.** Inflammatory mediators and cartilage biomarkers in synovial fluid after a single inflammatory insult:

A longitudinal experimental study. *Arthritis Research and Therapy*, v. 11, n. 2, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1186/ar2640>.

DE GRAUW, J. C.; VAN LOON, J. P. A. M. Systematic pain assessment in horses. *Veterinary Journal*, v. 209, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.07.030>.

DESANTANA, J. M.; PERISSINOTTI, D. M. N.; OLIVEIRA JUNIOR, J. O.; CORREIA, L. M. F.; OLIVEIRA, C. M.; FONSECA, P. R. B. Definition of pain revised after four decades. *Brazilian Journal of Pain*, v. 3, n. 3, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5935/2595-0118.20200191>.

DESCOVICH, K. A.; WATHAN, J.; LEACH, M. C.; BUCHANAN-SMITH, H. M.; FLECKNELL, P.; FARNINGHAM, D.; VICK, S. J. Facial expression: An under-utilized tool for the assessment of welfare in mammals. *Altex*, v. 34, n. 3, 2017. DOI: <https://doi.org/10.14573/altex.1607161>.

DONG, J. G. The role of heart rate variability in sports physiology (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, v. 11, n. 5, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3104>.

FORSTER, P.; HURLES, M. E.; JANSEN, T.; LEVINE, M.; RENFREW, C. Origins of the domestic horse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 109, n. 46, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1210326109>.

FUREIX, C.; JEGO, P.; HENRY, S.; LANSADE, L.; HAUSBERGER, M. Towards an ethological animal model of depression? A study on horses. *PLoS ONE*, v. 7, n. 6, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039280>.

GEHLEN, H.; LOSCHELDER, J.; MERLE, R.; WALTHER, M. Evaluation of stress response under a standard euthanasia protocol in horses using analysis of heart rate variability. *Animals*, v. 10, n. 3, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10030485>.

GU, Z.; ZARUBIN, V.; MARTSBERGER, C. The effectiveness of time domain and nonlinear heart rate variability metrics in ultra-short time series. *Physiological Reports*, v. 11, n. 22, 2023. DOI: <https://doi.org/10.14814/phy2.15863>.

HERNÁNDEZ-AVALOS, I.; FLORES-GASCA, E.; MOTA-ROJAS, D.; CASAS-ALVARADO, A.; MIRANDA-CORTÉS, A. E.; DOMÍNGUEZ-OLIVA, A. Neurobiology of anesthetic-surgical stress and induced behavioral changes in dogs and cats: A review. *Veterinary World*, v. 14, n. 2, 2021. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.393-404>.

HERNÁNDEZ-AVALOS, I.; MOTA-ROJAS, D.; MENDOZA-FLORES, J. E.; CASAS-ALVARADO, A.; FLORES-PADILLA, K.; MIRANDA-CORTES, A. E.; TORRES-BERNAL, F.; GÓMEZ-PRADO, J.; MORA-MEDINA, P. Nociceptive pain and anxiety in equines: Physiological and behavioral alterations. *Veterinary World*, v. 14, n. 11, 2021a. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2984-2995>.

HERNÁNDEZ-AVALOS, I.; MOTA-ROJAS, D.; MENDOZA-FLORES, J. E.; CASAS-ALVARADO, A.; FLORES-PADILLA, K.; MIRANDA-CORTES, A. E.; TORRES-

BERNAL, F.; GÓMEZ-PRADO, J.; MORA-MEDINA, P. Nociceptive pain and anxiety in equines: Physiological and behavioral alterations. *Veterinary World*, v. 14, n. 11, 2021b. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2984-2995>.

HERNANDEZ-AVALOS, I.; MOTA-ROJAS, D.; MORA-MEDINA, P.; MARTÍNEZ-BURNES, J.; CASAS ALVARADO, A.; VERDUZCO-MENDOZA, A.; LEZAMA-GARCÍA, K.; OLMOS-HERNANDEZ, A. Review of different methods used for clinical recognition and assessment of pain in dogs and cats. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, v. 7, n. 1, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/23144599.2019.1680044>.

HERNANDO, D.; ROCA, S.; SANCHO, J.; ALESANCO, Á.; BAILÓN, R. Validation of the Apple Watch for Heart Rate Variability Measurements during Relax and Mental Stress in Healthy Subjects. *Sensors*, v. 18, n. 8, p. 2619, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/s18082619>.

JACOBS, C. C.; SCHNABEL, L. V.; MCILWRAITH, C. W.; BLIKSLAGER, A. T. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in equine orthopaedics. *Equine Veterinary Journal*, v. 54, n. 4, 2022a. DOI: <https://doi.org/10.1111/evj.13561>.

JACOBS, C. C.; SCHNABEL, L. V.; MCILWRAITH, C. W.; BLIKSLAGER, A. T. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in equine orthopaedics. *Equine Veterinary Journal*, v. 54, n. 4, 2022b. DOI: <https://doi.org/10.1111/evj.13561>.

JONES, B.; KENWARD, M. G. Designing cross-over trials for three or more treatments. In: *Design and Analysis of Cross-Over Trials*. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1201/b17537-10>.

KANIA, B. F.; WROŃSKA, D.; BRACHA, U. Pain, Pathophysiological Mechanisms, and New Therapeutic Options for Alternative Analgesic Agents in Sheep: A Review and Investigation. *Animals*, v. 11, n. 3, p. 909, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11030909>.

KNYCH, H. K. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Use in Horses. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, v. 33, n. 1, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2016.11.001>.

KNYCH, H. K.; STEFFEY, E. P.; STANLEY, S. D. The effects of yohimbine on the pharmacokinetic parameters of detomidine in the horse. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, v. 39, n. 3, p. 221–229, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1467-2995.2011.00690.x>.

McCONACHIE, E. L.; GIGUÈRE, S.; RAPOPORT, G.; BARTON, M. H. Heart rate variability in horses with acute gastrointestinal disease requiring exploratory laparotomy. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, v. 26, n. 2, p. 269–280, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/vec.12362>.

MENDOZA, F. J.; SERRANO-RODRIGUEZ, J. M.; PEREZ-ECIJA, A. Pharmacokinetics of meloxicam after oral administration of a granule formulation to

healthy horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 33, n. 2, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvim.15433>.

MERCER, M. A.; DAVIS, J. L.; MCKENZIE, H. C. The Clinical Pharmacology and Therapeutic Evaluation of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Adult Horses. *Animals*, v. 13, n. 10, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13101597>.

MITCHELL, K. J.; SCHWARZWALD, C. C. Heart rate variability analysis in horses for the diagnosis of arrhythmias. *Veterinary Journal*, v. 268, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2020.105590>.

MUIR, W. W. Pain: Mechanisms and Management in Horses. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, v. 26, n. 3, p. 467–480, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.07.008>.

OEL, C.; GERHARDS, H.; GEHLEN, H. Influence of nociceptive stimuli on heart rate variability in equine general anesthesia. *Pferdeheilkunde Equine Medicine*, v. 26, n. 2, 2010. DOI: <https://doi.org/10.21836/pem20100219>.

OLSON, M. E.; NAGEL, D.; CUSTEAD, S.; WISE, W.; PENTTILA, K.; BURWASH, L.; RALSTON, B.; SCHATZ, C.; MATHESON-BIRD, H. The Palatability and Comparative Efficacy of Meloxicam Oral Suspension for the Treatment of Chronic Musculoskeletal Disease in Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 44, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2016.03.003>.

OLSON, M. E.; RALSTON, B.; BURWASH, L.; MATHESON-BIRD, H.; ALLAN, N. D. Efficacy of oral meloxicam suspension for prevention of pain and inflammation following band and surgical castration in calves. *BMC Veterinary Research*, v. 12, n. 1, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0735-3>.

PLEWS, D. J.; LAURSEN, P. B.; STANLEY, J.; KILDING, A. E.; BUCHHEIT, M. Training adaptation and heart rate variability in elite endurance athletes: Opening the door to effective monitoring. *Sports Medicine*, v. 43, n. 9, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40279-013-0071-8>.

PRIEST, T. Chronic pain: mechanisms and treatment. *Current Opinion in Pharmacology*, v. 2, n. 3, p. 310–315, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1471-4892\(02\)00164-9](https://doi.org/10.1016/S1471-4892(02)00164-9).

RASHID, M.; SILVENTOINEN, A.; GLEERUP, K. B.; ANDERSEN, P. H. Equine facial action coding system for determination of pain-related facial responses in videos of horses. *PLoS ONE*, v. 15, nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231608>.

REID, K.; ROGERS, C. W.; GRONQVIST, G.; GEE, E. K.; BOLWELL, C. F. Anxiety and pain in horses measured by heart rate variability and behavior. *Journal of Veterinary Behavior*, v. 22, p. 1–6, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2017.09.002>.

RIETMANN, T. R.; STAUFFACHER, M.; BERNASCONI, P.; AUER, J. A.; WEISHAAPT, M. A. The association between heart rate, heart rate variability, endocrine and behavioural pain measures in horses suffering from laminitis. *Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine*, v. 51, n. 5, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2004.00627.x>.

RIGANELLO, F.; CHATELLE, C.; SCHNAKERS, C.; LAUREYS, S. Heart Rate Variability as an Indicator of Nociceptive Pain in Disorders of Consciousness? *Journal of Pain and Symptom Management*, v. 57, n. 1, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2018.09.016>.

SANTOS JÚNIOR, D. de A.; CARVALHO, C. V. D.; BOMFIM, F. P. de S.; PEREIRA, M. T. B.; CARVALHO, S. de A.; MIRANDA NETO, E. G. de; ESCODRO, P. B. Avaliação do nível de conhecimento da prescrição de AINEs para equinos no nordeste brasileiro. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 2, p. e41911225882, 2022. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i2.25882>.

SANTOS JÚNIOR, D. de A.; OLIVEIRA FILHO, E. F. de; MIRANDA NETO, E. G. de; ESCODRO, P. B. Efeitos adversos do uso prolongado de anti-inflamatórios não esteroidais inibidores da COX-2 em equinos: revisão. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 9, 2020. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7747>.

SHAFFER, F.; GINSBERG, J. P. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. *Frontiers in Public Health*, v. 5, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00258>.

SOILUVA, J.; HÄYRINEN, L.; GANGINI, G.; ÖISTÄMÖ, R.; GRACIA-CALVO, L. A.; RAEKALLIO, M. R. Comparison of Asymmetry During Trot In-Hand With Evaluations of Discomfort and Pain in Horses While Exercised. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 126, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2023.104282>.

STUCKE, D.; GROßE RUSE, M.; LEBELT, D. Measuring heart rate variability in horses to investigate the autonomic nervous system activity - Pros and cons of different methods. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 166, 2015a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.02.007>.

STUCKE, D.; GROßE RUSE, M.; LEBELT, D. Measuring heart rate variability in horses to investigate the autonomic nervous system activity – Pros and cons of different methods. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 166, p. 1–10, 2015b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.02.007>.

URAYAMA, S.; TANAKA, A.; KUSANO, K.; SATO, H.; MURANAKA, M.; MITA, H.; NAGASHIMA, T.; MATSUDA, H. Oral Administration of Meloxicam and Flunixin Meglumine Have Similar Analgesic Effects After Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Response in Thoroughbred Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 121, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2022.104205>.

URAYAMA, S.; TANAKA, A.; KUSANO, K.; SATO, H.; NAGASHIMA, T.; FUKUDA, I.; FUJISAWA, C.; MATSUDA, H. Oral Administration of Meloxicam Suppresses Low-

Dose Endotoxin Challenge–Induced Pain in Thoroughbred Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 77, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.03.001>.

VAN DE WATER, E.; OOSTERLINCK, M.; DUMOULIN, M.; KORTHAGEN, N. M.; VAN WEEREN, P. R.; VAN DEN BROEK, J.; EVERTS, H.; PILLE, F.; VAN DOORN, D. A. The preventive effects of two nutraceuticals on experimentally induced acute synovitis. *Equine Veterinary Journal*, v. 49, n. 4, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/evj.12629>.

VAN DE WATER, E.; OOSTERLINCK, M.; KORTHAGEN, N. M.; DUCHATEAU, L.; DUMOULIN, M.; VAN WEEREN, P. R.; OLIJVE, J.; VAN DOORN, D. A.; PILLE, F. The lipopolysaccharide model for the experimental induction of transient lameness and synovitis in Standardbred horses. *Veterinary Journal*, v. 270, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105626>.

VON BORELL, E.; LANGBEIN, J.; DESPRÉS, G.; HANSEN, S.; LETERRIER, C.; MARCHANT-FORDE, J.; MARCHANT-FORDE, R.; MINERO, M.; MOHR, E.; PRUNIER, A.; VALANCE, D.; VEISSIER, I. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals - A review. *Physiology and Behavior*, v. 92, n. 3, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.01.007>.

ZIEGLER, A.; FOGLE, C.; BLIKSLAGER, A. Update on the use of cyclooxygenase-2–selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 250, n. 11, 2017. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.250.11.1271>.

CAPÍTULO 2 - Controle autônomo em equinos que receberam administração oral preventiva de meloxicam e submetidos à indução de sinovite transitória

RESUMO

A dor mecânica ou inflamatória pode causar alterações na plasticidade do sistema nervoso, resultando em modificações fisiológicas que desequilibram a homeostase entre os tônus parassimpático e simpático, afetando a variabilidade da frequência cardíaca (VFC). A VFC é determinada pela flutuação dos intervalos RR e é considerada uma ferramenta importante para avaliar o sistema nervoso autônomo (SNA) em humanos e animais. A implementação de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) seletivos para COX-2 na clínica equina tem se tornado cada vez mais comum. O objetivo deste estudo foi monitorar se variáveis de tempo, frequência e análises não lineares relacionadas à VFC são capazes de detectar a eficácia dos AINEs em um modelo de controle inflamatório preventivo.

Seis cavalos sem raça definida foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais (C, Controle e AINEs, Meloxicam) em um ensaio aleatorizado do tipo cruzado (cross-over). Sinovite transitória foi induzida na região do carpo intermediário por meio da administração intra-articular de lipopolissacarídeos (LPS). Em seguida, a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) foi avaliada por 5 ou 30 minutos em seis momentos: M0, M2, M4, M8, M24 e M48 horas após a aplicação de LPS. Os dados de VFC foram processados utilizando o software Kubios para análise. Aplicou-se análise de variância de duas vias para medidas repetidas, seguida pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Na avaliação de 5 minutos, houve elevação do índice de estresse e dos intervalos RR, bem como redução da frequência cardíaca média e mínima no grupo AINEs, quatro horas após a aplicação de LPS. Na avaliação de 30 minutos, houve elevação da RMSSD (M2-M48) no grupo controle e redução da frequência cardíaca mínima no grupo que recebeu meloxicam. Na comparação intragrupo, na avaliação de 5 minutos, a frequência cardíaca média e mínima e os intervalos RR aumentaram no grupo controle, enquanto a variável não linear SD1 no grupo meloxicam reduziu.

No domínio da frequência, em 30 minutos, HF (ms^2) aumentou no grupo controle, assim como HF (n.u.) nos momentos M2-M4 e M8. LF (n.u.) aumentou no grupo AINEs no momento M2. A razão LF/HF (ms^2) se elevou nos momentos M0-M2-M4 e M8 no grupo AINEs, e uma redução da VFC em FFT-HF (ms^2) foi observada, com diferença estatística ($P < 0,05$), mostrando aumento da VFC no grupo controle nos momentos M2 e M8. FFT-HF (n.u.) evidenciou aumento da VFC nos momentos M0-M2-M4 e M8 no grupo controle, enquanto FFT-LF (n.u.) mostrou aumento da VFC no grupo Maxicam nos momentos M2-M4 e M8. A razão FFT-LF/HF (ms^2) alterou a VFC no grupo meloxicam nos momentos M0-M2-M4 e M8. No método não linear de 30 minutos, foi evidenciada diferença estatística entre os grupos na variável SD1 nos momentos M2-M48.

Pode-se concluir que algumas variáveis da VFC fornecem informações complementares para uma avaliação confiável de modelos de dor ortopédica, de acordo com a resposta simpátovagal à dor induzida transitoriamente e pré-tratada com meloxicam, o que pode representar um método interessante para a avaliação de medicações anti-inflamatórias.

Palavras-chave: Sistema nervoso autônomo; Frequência cardíaca; Sistema nervoso parassimpático; Sistema nervoso simpático; cavalo; inflamação

Autonomic Control in Horses Receiving Preemptive Oral Administration of Meloxicam and Subjected to Induced Transient Synovitis

ABSTRACT

Mechanical or inflammatory pain can cause changes in nervous system plasticity, resulting in physiological alterations that disrupt the homeostasis between parasympathetic and sympathetic tone, thereby modifying heart rate variability (HRV). HRV, determined by the fluctuation of RR intervals, is considered a valuable tool for evaluating the autonomic nervous system (ANS) in both humans and animals. The use of selective COX-2 nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in equine clinical practice is becoming increasingly common. This study aimed to monitor whether time-domain, frequency-domain, and nonlinear HRV variables can detect the efficacy of NSAIDs in a model of preemptive inflammation control.

Six mixed-breed horses were randomly assigned to two experimental groups (Control-C and NSAIDs, Meloxicam) in a randomized crossover trial. Transient synovitis was induced in the intermediate carpal joint through intra-articular administration of lipopolysaccharides (LPS). HRV was then evaluated for 5 or 30 minutes at six time points: M0, M2, M4, M8, M24, and M48 hours after LPS administration. HRV data were processed using HRV analysis software (Kubios). Two-way repeated measures analysis of variance was applied, followed by Tukey's test ($P < 0.05$). In the 5-minute evaluation, there was an increase in stress index and RR intervals, as well as a reduction in mean and minimum HR in the NSAIDs group, four hours after LPS administration. In the 30-minute evaluation, there was an increase in RMSSD (M2-M48) in the control group and a reduction in minimum HR in the meloxicam group.

In the 5-minute intragroup comparison, mean and minimum HR and RR intervals increased in the control group, while the nonlinear variable SD1 decreased in the meloxicam group. In the 30-minute frequency-domain evaluation, HF (ms²) increased in the control group, as did HF (n.u) at M2-M4 and M8, while LF (n.u) increased in the NSAIDs group at M2. The LF/HF (ms²) ratio increased at M0, M2, M4, and M8 in the NSAIDs group, and a reduction in HRV in FFT-HF (ms²) was observed with a statistical difference, showing an increase in HRV in the control group at M2 and

M8. FFT-HF (n.u) indicated an increase in HRV at M0, M2, M4, and M8 in the control group, while FFT-LF (n.u) showed an increase in HRV in the Maxicam group at M2, M4, and M8, with FFT-LF/HF (ms²) changing HRV in the meloxicam group at M0, M2, M4, and M8. In the 30-minute nonlinear method, a statistical difference was evident between the groups in the SD1 variable from M2 to M48.

It can be concluded that certain HRV variables can provide complementary information for reliable assessment in models of transient orthopedic pain based on sympathovagal responses to pain preemptively treated with meloxicam, representing a promising method for evaluating anti-inflammatory medications.

Keywords: Autonomic nervous system; Heart rate; Parasympathetic nervous system; Sympathetic nervous system.

2.1 INTRODUÇÃO

Diagnosticar e tratar a claudicação em cavalos é crucial para garantir o bem-estar na prática equina. Além do exame de claudicação, uma abordagem útil para o diagnóstico pode ser a verificação da ação do sistema nervoso autônomo, que pode indiretamente revelar o impacto da inflamação e da dor na condição clínica do paciente (Jacobs et al., 2022b). A VFC pode ser utilizada para avaliação da dor em humanos (Riganello et al., 2019), cães (Hernández-Avalos et al., 2019) e equídeos (Soiluva et al., 2023). Em humanos, o uso da VFC é frequentemente estudado para a prevenção de doenças cardíacas, morte súbita cardíaca e doenças metabólicas (Dong, 2016).

Ademais, a VFC pode ser implementada para medir o curso de tempo para a adaptabilidade ao treinamento físico (Plews et al., 2013). Em animais, a VFC foi recentemente implementada para avaliar o estresse autonômico e as reações de dor (Stucke et al., 2015a). Foi avaliado em animais de fazenda para mensurar estresse e enfrentamento por meio da VFC, observando-se resultados promissores, de acordo com sua relação simpato-vagal (von Borell et al., 2007). Além disso, também tem sido utilizada para controlar condições inflamatórias e dolorosas em cavalos.

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são comumente administrados para tratar doenças músculoesqueléticas (Knych, 2017). São potentes inibidores das enzimas ciclooxigenase (COXs), responsáveis pela conversão do ácido araquidônico em eicosanoides, como prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos. Esses mediadores químicos desempenham um papel essencial na cascata inflamatória, incluindo aumento da permeabilidade vascular, calor e dor. O bloqueio da produção desses mediadores provoca efeito anti-inflamatório e analgésico (Ziegler et al., 2017).

Além da liberação de mediadores teciduais da dor, como bradicinina (BK), substância P (SP), acetilcolina, histamina, serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) e prostaglandinas (PG), esses peptídeos são chamados de tipo sensorial calcitreína. Os peróxidos de PG denotam efeitos nociceptivos em tecidos animais. A estimulação de fibras nociceptivas do tipo CDR aumenta a liberação do peptídeo relacionado ao gene da substância P e calcitonina (CGRP), que, por sua vez, excitam os neurônios que conduzem estímulos nociceptivos e melhoram a intensidade da percepção da dor (Kania et al., 2021).

A evolução, monitoramento e melhoria do bem-estar animal dependem de ferramentas de medição confiáveis e válidas, que podem incluir indicadores fisiológicos, psicológicos, comportamentais e clínicos (Descovich et al., 2017). Sendo a dor uma preocupação na Medicina Veterinária Equina, seu reconhecimento precoce pode melhorar o bem-estar e prevenir outras doenças incapacitantes para a espécie (Rashid et al., 2020). A exposição constante a situações dolorosas pode reduzir o bem-estar, gerando mudanças fisiológicas e comportamentais repentinas, que se refletem na forma de lidar com as mudanças no ambiente circundante devido à alteração do sistema imuno-neuroendócrino, com liberação na corrente circulatória de adrenalina, noradrenalina, catecolaminas e cortisol (Hernández-Avalos et al., 2021). O estímulo nociceptivo e a estimulação produzida no tálamo por essas substâncias podem gerar um impulso ao nível dos neurônios reticulares, estimulando o sistema nervoso autônomo, causando taquicardia e estimulação do sistema respiratório, gerando um aumento da distância entre os picos dos intervalos R-R, levando a alterações na VFC (Priest, 2002).

A VFC é determinada a partir da flutuação dos intervalos de tempo entre batimentos cardíacos adjacentes, sendo considerada uma ferramenta clínica para avaliação do sistema autônomo (SNA) em humanos e animais há mais de 170 anos. A análise tradicional da VFC foi inicialmente realizada para identificar alterações no equilíbrio vago-simpático (Mitchell & Schwarzwald, 2021). Tal ferramenta pode ser determinada a partir da análise do domínio do tempo e domínio da frequência, metodologias que consistem no uso de cálculos estatísticos com base em intervalos R-R, resultando em índices que quantificam a VFC. Este método pode oferecer informações relevantes sobre o SNA em animais hígidos ou enfermos (Restan et al., 2020). As flutuações temporais da frequência cardíaca são evidentes em sincronia com a respiração, aumentando durante a inspiração e reduzindo durante a expiração em relação aos intervalos RR. Esse evento fisiológico é denominado arritmia sinusal respiratória (ASR). Acredita-se que esteja relacionado a alterações na regulação autonômica cardíaca (Billman, 2011).

O estudo da interferência relacionada à ASR na variabilidade da frequência cardíaca foi proposto pelo reverendo Stephen Hales em 1733, que foi o primeiro a notar que o pulso variava com a respiração. Em 1847, Carl Ludwig foi o primeiro a

registrar a ASR (Billman, 2011). A correção é feita nas 'frequency bands' em HF, ajustando a respiração de acordo com a espécie equina, com base no que foi proposto por von Borell et al. (2007). Utilizando a faixa de 0,13 a 0,26 Hz, que corresponde a uma faixa de frequência respiratória básica de 8-16 rpm, isso corrige a faixa de erro entre os intervalos RR, o que pode afetar a respiração nas variáveis LF-HF.

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são os fármacos mais utilizados em cavalos para a gestão terapêutica da inflamação e dor de origens mio-artro-esqueléticas e viscerais (Santos Júnior et al., 2020). As lesões ortopédicas são as principais causas de desconforto em cavalos, além de serem agentes causais do comprometimento do bem-estar. As afecções do sistema locomotor são comumente tratadas com AINEs, que desempenham um papel importante no manejo dessas doenças (Olson, Nagel, et al., 2016).

Duas isoformas clinicamente importantes da enzima cicloxigenase (COX) são encontradas no tecido equino: ciclooxygenase-1 (COX-1) e ciclooxygenase-2 (COX-2). A COX-1 tem a função de controlar a homeostase fisiológica gastrointestinal, renal e vascular, produzindo prostaglandinas necessárias para sua modulação. A COX-2, descrita em 1992, está presente principalmente no cérebro e na medula espinhal (Jacobs et al., 2022). Os AINEs são potentes inibidores das enzimas COX (Knych, Steffey, Stanley, 2012). Sendo o meloxicam o AINEs com maior seletividade para inibição da COX-2, este fármaco pode causar menor grau de efeitos gastrointestinais em comparação com outros AINEs (Class of et al., 2017).

O meloxicam tem sido utilizado no tratamento preventivo da inflamação em equinos, visando mitigar os efeitos inflamatórios da sinovite induzida pela administração intra-articular de lipopolissacarídeos (LPS). Esse efeito clínico pode ajudar a evitar que a inflamação aguda se torne crônica, preservando o bem-estar do cavalo ao controlar a dor (Van de Water et al., 2021). Os AINEs são amplamente empregados para reduzir os efeitos adversos das endotoxinas e também para mitigar a formação de metabolitos do ácido araquidônico (Campbell et al., 2007). A International Association for the Study of Pain (IASP) define a dor como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a possível dano tecidual ou a uma experiência descrita em relação a tal dano (Desantana et al., 2020). Recentemente, nosso grupo de pesquisa utilizou a termografia infravermelha funcional

para avaliar a eficácia do meloxicam no tratamento preventivo de sinovite transitória e claudicação em cavalos (Carvalho et al., 2024). O objetivo deste estudo foi expandir a abordagem do estudo anterior e investigar a eficácia dos medicamentos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) utilizando a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) como um método de diagnóstico não invasivo.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Animais

Seis cavalos mestiços, sendo três machos e três fêmeas, foram utilizados no experimento, com massa corpórea média de 395 ± 35 kg e idades variando entre 12 e 20 anos. Esses cavalos pertencem ao rebanho didático do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Exercício Equino (LAFEQ), do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil. Foram mantidos em piquete e alimentados com 0,05% do peso corporal em concentrado uma vez ao dia, juntamente com feno, silagem de feno, sal mineral e água ad libitum. Antes do início do experimento, os cavalos passaram por um exame físico completo para garantir seu bom estado de saúde. Testes hematológicos e bioquímicos também foram realizados. Os cavalos receberam tratamento prévio com anti-helmínticos e foram vacinados contra raiva, toxóide tetânico, encefalomielite equina oriental e ocidental, e influenza equina tipos A1 e A2. O estudo seguiu os Princípios Éticos na Experimentação Animal estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA). O protocolo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNESP, Jaboticabal, Brasil (Protocolo nº 2887/2021).

2.2.2 Grupos experimentais

Com base em um estudo anterior realizado por Van de Water et al., 2017, o tamanho da amostra foi de seis cavalos, todos alojados nas mesmas condições. Os

cavalos foram distribuídos em dois grupos: grupo controle (C, n=6) e grupo tratado com meloxicam (NSAIDs - meloxicam, n=6).

O meloxicam foi formulado e fabricado pela Ourofino Animal Health Company para uso comercial no Brasil, e o estudo foi planejado em conformidade com as regulamentações brasileiras. A pesquisa foi conduzida em um delineamento cruzado controlado, num experimento pareado, cego e aleatorizado, com intervalo de duas semanas entre as fases.

Um delineamento cross-over ou cruzado é uma abordagem experimental em que cada indivíduo atua como seu próprio controle, recebendo diferentes tratamentos em períodos distintos, separados por um intervalo de lavagem para evitar efeitos residuais. Este método é ideal em estudos com cavalos para reduzir a variabilidade individual e otimizar o uso de um número limitado de animais (Jones & Kenward, 2018).

O grupo AINEs recebeu meloxicam por via oral na dose de 0,6 mg/kg de massa corporal, uma vez ao dia durante 3 dias, às 48h (D-2), 24h (D-1) e 1h (D0) antes da indução da sinovite, conforme protocolo previamente adaptado (Van de Water et al., 2017). Os cavalos do grupo controle receberam solução salina por via oral nos mesmos horários do grupo AINEs, a fim de simular as mesmas condições da administração do meloxicam.

Conforme descrito nos materiais e métodos, os cavalos que continuaram a apresentar sinais de claudicação receberam uma dose adicional de tratamento 24 horas após a injeção de LPS. Esta dose adicional foi administrada a um cavalo do grupo NSAIDs (MAXVO) e a três cavalos do grupo controle (Carvalho et al., 2024).

O estudo foi realizado de forma cega, e os pesquisadores responsáveis pelas avaliações não sabiam a qual grupo cada cavalo pertencia. Apenas um pesquisador (JRGC) foi responsável pela administração dos tratamentos aos cavalos.

2.2.3 Preparação da LPS

A padronização dos procedimentos laboratoriais para a preparação da solução LPS foi crucial. Seguiu-se um modelo de indução de sinovite transitória por LPS previamente estabelecido, descrito em equinos (Van de Water et al., 2021). A solução de *E. coli* 055:B5 (L2880, Sigma Aldrich, lote 059N4031V) foi preparada utilizando

materiais estéreis, e todas as etapas do preparo da solução foram realizadas em fluxo laminar, sob refrigeração. A partir da solução estoque, que tinha uma concentração de 5 mg/ml de LPS em meio RPMI 1640 (Gibco™, ThermoFisher), foi preparada uma nova diluição, adicionando 1 µl da solução estoque a 5 ml de RPMI. Esta solução intermediária tinha concentração de 3.000 EU/ml e foi armazenada em frasco apropriado.

A solução de trabalho foi obtida diluindo 90 µL da solução intermediária em 27 mL de PBS estéril, resultando na concentração desejada de 10 EU/mL. A solução de trabalho foi armazenada em microtubos contendo 1,5 mL cada, e o material foi descongelado por no máximo 1 hora antes da injeção intra-articular para indução do processo inflamatório. As soluções estoque e intermediária foram agitadas em vórtex por 10 minutos a uma velocidade de 1.500 rpm antes da diluição, para garantir uma solução homogênea (Van de Water et al., 2021). Antes da administração intra-articular, a solução de trabalho foi novamente agitada em vórtex por 2 minutos a 1.500 rpm.

2.2.4 Indução da sinovite transitória

Os cavalos foram submetidos a um procedimento que induziu um processo inflamatório temporário por meio da aplicação de *E. coli* 055:B5 LPS na articulação carpal média. Um sorteio aleatório determinou qual articulação (esquerda ou direita) receberia a solução de 1 mL contendo 10 unidades de endotoxina (UE) de LPS. Para garantir a segurança do procedimento, os cavalos foram sedados com detomidina (0,01 mg/kg i.v.) e, após a conclusão do procedimento, receberam ioimbina (0,12 mg/kg i.v.) para reverter a sedação (Knych et al., 2012).

O início da inflamação foi considerado o momento inicial (0). Antes do procedimento de artrocentese, o local de aplicação foi limpo com clorexidina degermante e álcool 70% para garantir a antissepsia. Utilizou-se uma agulha 30 x 8 e uma seringa de 1 mL para coletar o líquido sinovial. Em seguida, toda a solução de LPS foi injetada em ambos os grupos. Após a indução da sinovite transitória, os cavalos foram mantidos em piquetes individuais com área aproximada de 75,9 m². Esses piquetes eram cercados por cerca de madeira e arame liso, protegidos com isolamento plástico, e possuíam cobertura para proteção contra precipitações e luz

solar intensa. Esse tipo de manejo garantiu a manutenção dos hábitos regulares da espécie equina, como pastoreio, movimentação e socialização.

2.2.5 Aplicação de anti-inflamatório.

Os equinos, em cada etapa do estudo, receberam anti-inflamatório ou nenhum tratamento, dependendo do grupo e da via de aplicação aos quais foram alocados. Foi utilizada a dose de 0,6 mg/kg de meloxicam, aplicada pela via oral nos dias D-2, D-1 e D0. A indução da inflamação foi realizada neste momento.

2.2.6 Determinação da variabilidade da frequência cardíaca.

Os dados de frequência cardíaca (FC) foram obtidos pelo aparelho frequencímetro Polar 91ABA962E, com transmissor específico para equinos (Polar H-10, Polar Electro, Kempele, Finlândia). Os dados armazenados no aplicativo POLAR FLOW® (<https://flow.polar.com/>) foram transferidos e processados pelo software específico para análise da variabilidade da frequência cardíaca (Kubios; Biosignal and Medical Image Analysis Group, Department of Physics, University of Kuopio, Kuopio, Finlândia, <https://www.kubios.com/>), conforme outros estudos realizados em humanos (Hernando et al., 2018) e equinos (Broux et al., 2017; Ter Woort et al., 2020). No domínio do tempo, foram avaliados: Mean HR, Min HR, Peak HR, Mean RR, SDNN, RMSSD, NN50, PNN50 (%), HRV Triangular, Stress Index, STD HR e TINN. Já no domínio da frequência, foram avaliados FFT-HF, FFT-LF, FFT LF/HF, AR-HF, AR-LF e AR-LF/HF. Como métodos não lineares, foram utilizados SD1 e SD2.

Tabela 1: Variáveis no domínio do tempo

VARIÁVEL	UNIDADE	DESCRIÇÃO	FÓRMULA
SDNN	ms	Desvio padrão dos intervalos RR	$\sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (RR_i - \overline{RR})^2}$
SDANN	ms	Desvio padrão da média dos intervalos RR em segmentos de 5 minutos de toda a série temporal	$\sqrt{\frac{1}{m-1} \sum_{s=1}^m (\overline{RR}_s - \overline{RR}_{alls})^2}$
RMSSD	ms	Raiz quadrada da média dos quadrados das diferenças entre intervalos RR adjacentes	$\sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{j=1}^{N-1} \Delta RR_j^2}$
SDNN index	ms	Média do desvio padrão dos intervalos RR em segmentos de 5 minutos de toda a série temporal	$\frac{1}{m} \sum_{s=1}^m SDNN_s$
SDSD	ms	Desvio padrão das diferenças entre intervalos RR adjacentes	$\sqrt{\frac{1}{N-2} \sum_{j=1}^{N-1} (\Delta RR_j - \overline{\Delta RR})^2}$
NN50		Número de pares de intervalos RR adjacentes cuja diferença entre si é maior que 50 ms	$n^{\circ} \text{ de } \Delta RR_j > 50 \text{ ms}$
pNN50	%	NN50 dividido pelo número de intervalos RR	$\frac{1}{N-1} NN50 * 100$

Tabela 2: Variáveis Geométricas

VARIÁVEL	UNIDADE	DESCRIÇÃO	FÓRMULA
VFC index		Número total de intervalos RR divididos pela altura máxima do histograma de todos os intervalos RR	$\frac{N}{\max(\text{histograma}(RR))}$
TINN	Ms	Largura da base da interpolação triangular do histograma de intervalos RR	$\frac{N * \text{tamanho do bin}}{\max(\text{histograma}(RR))} * 2$

Tabela 3: Domínio da Frequência

VARIÁVEL	FAIXA DE FREQUÊNCIA	SIGNIFICADO FISIOLÓGICO
LF	0,044 - 0,15 HZ	Atividade simpática e parassimpática, barorreflexo
HF	0,15 - 0,4 HZ	Atividade parassimpática (Vagal), Respiração
Relação LF/HF	N/A	Equilíbrio simpático-parassimpático

Tabela 4: Variáveis não lineares da variabilidade de frequência cardíaca (VFC)

VARIÁVEL NÃO LINEAR	DESCRIÇÃO	INTERPRETAÇÃO
Análise de Poincaré (SD1)	Mede a variabilidade de curto prazo (eixo perpendicular)	Reflete a variabilidade de curto prazo influenciada pela atividade parassimpática (vagal)
Análise de Poincaré (SD2)	Mede a variabilidade de longo prazo (eixo ao longo da linha de identidade)	Representa a variabilidade de longo prazo, influenciada pela atividade simpática e parassimpática

2.2.7 Análise estatística

Os tratamentos do presente experimento seguiram esquema fatorial 2 x 4 (2 tratamentos e 4 momentos de avaliação) com 3 repetições pareadas num esquema de parcelas subdivididas, em que cada parcela foi um tratamento (2 tratamentos: controle negativo e meloxicam) e cada subparcela foi um momento (tempo) de avaliação. Na etapa subsequente do experimento aplicou-se delineamento Cross-Over, ou seja, os equinos receberam mais de um tratamento. A análise estatística foi realizada com Sigma versão (14.5) aplicou-se modelo misto com animal como efeito aleatório e tempo, tratamento e sua interação como efeitos fixos categóricos. O efeito do tratamento também foi testado em diferentes momentos e variáveis, Mean HR, Min HR, Peak HR, Mean RR, SDNN, RMSSD, NN50, PNN50(%), HRV Triangular, Stress Index, STD HR e TINN- FFT-HF, FFT-LF, FFT-LF/HF, HF, LF e LF/HF e não lineais SD1 e SD2, em momentos 0, M2, M4, M8, M24 e M48 após indução da sinovite (AIS). Realizaram-se análise de variância múltipla de efeitos mistos para medidas repetidas no tempo e as medidas foram comparadas pelo teste Tukey.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Avaliação das Variáveis de Domínio do Tempo de 5 Minutos

Mediram-se as variáveis de domínio do tempo da variabilidade da frequência cardíaca para detectar possíveis sinais de dor e alterações fisiológicas causadas pela administração intra-articular de LPS. O grupo controle mostrou diferença mais alta 4 horas após a indução da sinovite na variável Mead RR. Após a comparação entre a diferença intra-grupos no grupo controle, observou-se diferença significativa na Mead HR e na Min HR, conforme evidenciado na Tabela 4. Também se evidenciou uma tendência estatística nas variáveis RMSSD e STD HR no grupo controle.

2.3.2 Avaliação das Variáveis de Domínio do Tempo de 30 Minutos

Foram observadas diferenças entre os grupos nas variáveis RMSSD nos momentos 2 e 48, assim como na variável Min HR no momento 4. Notou-se diferença intra-grupos na variável Mead HR no grupo controle, bem como na variável Min HR. A variável Mead RR mostrou diferença tanto no grupo controle quanto no grupo tratado, conforme evidenciado na Tabela 5. As outras variáveis não mostraram diferenças significativas no momento avaliado da variabilidade da frequência cardíaca em 30 minutos após a indução da sinovite na variável de domínio do tempo. A variável PNN50% apresentou uma tendência estatística.

2.3.3 Avaliação das Variáveis de Domínio da Frequência em 5 Minutos

Foi avaliada durante um período de 5 minutos a resposta fisiológica ao nível da VFC nas variáveis de domínio da frequência após a indução de sinovite. Evidenciou-se tendência estatística na variável FFT-HF entre os grupos após a indução de sinovite com LPS, alterando as variáveis relacionadas ao SNA, conforme descrito na Tabela 6. Observou-se, também, uma tendência estatística entre os grupos no método não linear, no grupo meloxicam, para a variável SD1 no momento 0.

2.3.4 Avaliação Domínio da Frequência - 30 Minutos

Foram medidas as variáveis do domínio da frequência para descrever este método como alternativa eficaz para conhecer o estado simpátovagal de seres vivos expostos à inflamação aguda ou mecânica. Evidenciou-se diferença estatística entre os grupos e intra-grupos nas variáveis em diferentes momentos (Tabela 7).

Na variável HF (ms^2), observou-se um aumento no grupo tratado com meloxicam no Momento 2. A variável HF (n.u.) apresentou diferença entre os grupos nos Momentos 2, 4 e 8, com tendência estatística no grupo controle após a injeção de LPS. A variável LF (n.u.) mostrou diferença entre os grupos no Momento 2. Houve diferença entre os grupos na variável LF/HF (ms^2) nos Momentos 0, 2, 4 e 8. A diferença entre os grupos também foi observada nas variáveis FFT-HF (ms^2) nos Momentos 2 e 8, FFT-HF (n.u.) nos Momentos 0 e 8, e FFT-LF (n.u.) nos Momentos 2, 4 e 8.

Foi evidenciada diferença intra-grupo no grupo controle. Na variável FFT-LF/HF (ms^2), notou-se um aumento nos Momentos 0, 2, 4 e 8. No método não linear de 30 minutos, a diferença entre os grupos foi evidenciada na variável SD1 nos Momentos 2 e 48.

Tabela 5: Valores médios \pm erro padrão das métricas do domínio do tempo registradas em um curto período de 5 minutos em cavalos submetidos à indução experimental de sinovite transitória pela injeção de 10 EU de LPS de *E. coli* 055:B5 na articulação do carpo médio e tratados preventivamente com AINEs

5 - MINUTES TIME-DOMAIN MEASURES										
VARIABLES	Groups	Timepoints						P Value		
		Baseline	2	4	8	24	48	Time	Groups	Time* Groups
Mean HR (bpm)	C	44 \pm 6 ^{cb}	52 \pm 6 ^{ac}	57 \pm 4 ^a	53 \pm 6 ^{ac}	40 \pm 5 ^b	36 \pm 2 ^b	0.001	0.143	0.243
	NSAIDs	40 \pm 3	47 \pm 4	47 \pm 3 [*]	48 \pm 4	30 \pm 6	35 \pm 9			
Min HR (bpm)	C	37 \pm 3 ^{bc}	41 \pm 3 ^{cd}	50 \pm 3 ^a	45 \pm 5 ^{ad}	34 \pm 2 ^b	32 \pm 2 ^b	0.001	0.131	0.195
	NSAIDs	34 \pm 1 ^b	38 \pm 2 ^{ab}	42 \pm 3 ^{*a}	41 \pm 3 ^{ac}	27 \pm 5 ^b	28 \pm 6 ^{bc}			
Peak HR (bpm)	C	64 \pm 14	83 \pm 14	74 \pm 8	70 \pm 10	59 \pm 17	52 \pm 7	0.165	0.972	0.472
	NSAIDs	53 \pm 7	90 \pm 23	62 \pm 7	63 \pm 6	36 \pm 8	67 \pm 24			
Mean RR (ms)	C	1488 \pm 165 ^a	1208 \pm 120 ^b	1074 \pm 76 ^b	1191 \pm 122 ^b	1587 \pm 137 ^a	1681 \pm 88 ^a	0.001	0.210	0.266
	NSAIDs	1523 \pm 105	1353 \pm 118	1299 \pm 91 [*]	1298 \pm 97	1417 \pm 289	1289 \pm 299			
SDNN (ms)	C	66 \pm 12	81 \pm 11	55 \pm 5	64 \pm 14	65 \pm 18	71 \pm 16	0.200	0.317	0.772
	NSAIDs	51 \pm 12	68 \pm 18	48 \pm 8	66 \pm 6	46 \pm 14	62 \pm 24			
RMSSD (ms)	C	78 \pm 19	85 \pm 17	58 \pm 8	72 \pm 19	72 \pm 23	81 \pm 16	0.348	0.099	0.237
	NSAIDs	56 \pm 13	62 \pm 13	51 \pm 9	53 \pm 12	56 \pm 20	57 \pm 17			
NN50 (Beats)	C	75 \pm 16	105 \pm 21	75 \pm 15	81 \pm 15	63 \pm 18	84 \pm 18	0.147	0.109	0.427
	NSAIDs	56 \pm 14	78 \pm 21	62 \pm 14	83 \pm 11	47 \pm 15	60 \pm 20			
PNN50 (%)	C	36 \pm 9	40 \pm 9	27 \pm 6	33 \pm 8	33 \pm 11	46 \pm 10	0.237	0.214	0.313
	NSAIDs	28 \pm 7	32 \pm 7	26 \pm 6	34 \pm 4	28 \pm 10	29 \pm 10			
HRV TRIANGULAR	C	12.2 \pm 2	15.3 \pm 2	11 \pm 1	12 \pm 1	9 \pm 3	14.4 \pm 2	0.422	0.273	0.626
	NSAIDs	12 \pm 3	14 \pm 3	12 \pm 1	14 \pm 1	12 \pm 3	10 \pm 2			
STRESS INDEX (SI)	C	6 \pm 1	5 \pm 1	7 \pm 1	7 \pm 1	8 \pm 2	6 \pm 1	0.356	0.606	0.036
	NSAIDs	8 \pm 2 [*]	7 \pm 1	8 \pm 1	6 \pm 1	6 \pm 1	5 \pm 1			
STD HR	C	3 \pm 1	4 \pm 1	3 \pm 0.3	3 \pm 1	2 \pm 1	2 \pm 0.4	0.089	0.141	0.389
	NSAIDs	2 \pm 0.5	3 \pm 1	2 \pm 0.4	3 \pm 0.5	1 \pm 0.2	2 \pm 1			
TINN	C	341 \pm 60	399 \pm 41	285 \pm 23	313 \pm 54	306 \pm 82	337 \pm 68	0.285	0.466	0.508
	NSAIDs	251 \pm 56	342 \pm 99	235 \pm 43	331 \pm 20	222 \pm 69	317 \pm 123			

AINEs, anti-inflamatórios não esteroidais. *Indica diferenças significativas entre cavalos do grupo controle e os tratados com AINEs. C, controle. AINEs, meloxicam. Cavalos que receberam meloxicam administrado por via oral na dose de 0,6 mg/kg por dia durante 3 dias antes da injeção de LPS.

Tabela 6: Valores médios \pm erro padrão (EP) das métricas do domínio do tempo registradas em um período curto de 30 minutos em cavalos submetidos à indução experimental de sinovite transitória pela injeção de 10 EU de LPS de E. coli055:B5 na articulação do carpo médio.

30 – MINUTES TIME-DOMAIN MEASURES										
VARIABLES	Groups	Timepoints						P VALUE		
		Baseline	2	4	8	24	48	Times	Groups	Time*Groups
Mean HR (bpm)	C	46 \pm 3 ^{ab}	45 \pm 1 ^{ab}	49 \pm 2 ^a	39 \pm 9 ^{ab}	39 \pm 3 ^{ab}	31 \pm 6 ^b	0.004	0.415	0.817
	NSAIDs	47 \pm 4	50 \pm 4	51 \pm 5	46 \pm 2	35 \pm 7	34 \pm 8			
Min HR (bpm)	C	34 \pm 1 ^{bc}	35 \pm 1 ^c	40 \pm 2 ^a	33 \pm 7 ^a	31 \pm 1 ^{bc}	26 \pm 5 ^b	0.001	0.394	0.010
	NSAIDs	34 \pm 1	35 \pm 2	35 \pm 1 [*]	36 \pm 2	26 \pm 5	26 \pm 5			
Peak HR (bpm)	C	121 \pm 12	92 \pm 10	81 \pm 4	62 \pm 14	110 \pm 19	64 \pm 14	0.675	0.498	0.325
	NSAIDs	107 \pm 10	111 \pm 17	103 \pm 16	92 \pm 12	76 \pm 20	106 \pm 49			
Mean RR (ms)	C	1314 \pm 81 ^{ab}	1322 \pm 36 ^{ab}	1240 \pm 55 ^b	1104 \pm 241 ^{ab}	1548 \pm 94 ^a	1229 \pm 269 ^{ab}	0.001	0.969	0.583
	NSAIDs	1299 \pm 90 ^b	1246 \pm 102 ^b	1231 \pm 110 ^b	1310 \pm 75 ^b	1224 \pm 261 ^{bc}	1375 \pm 282 ^{ac}			
SDNN (ms)	C	71 \pm 6	74 \pm 7	62 \pm 7	56 \pm 15	73 \pm 15	57 \pm 12	0.535	0.248	0.477
	NSAIDs	68 \pm 5	66 \pm 5	65 \pm 8	70 \pm 11	57 \pm 17	61 \pm 19			
RMSSD (ms)	C	68 \pm 9	77 \pm 13	68 \pm 11	59 \pm 18	73 \pm 16	63 \pm 15	0.139	0.038	0.286
	NSAIDs	60 \pm 8	57 \pm 6 [*]	59 \pm 10	65 \pm 11	52 \pm 16	60 \pm 19 [*]			
NN50 (Beats)	C	448 \pm 59	544 \pm 82	496 \pm 87	400 \pm 110	412 \pm 85	365 \pm 95	0.684	0.142	0.446
	NSAIDs	412 \pm 86	398 \pm 84	408 \pm 83	435 \pm 85	307 \pm 111	357 \pm 111			
PNN50 (%)	C	33 \pm 5	39 \pm 6	33 \pm 6	29 \pm 8	36 \pm 8	33 \pm 9	0.145	0.055	0.106
	NSAIDs	29 \pm 6	26 \pm 4	28 \pm 6	32 \pm 7	24 \pm 8	29 \pm 9			
HRV TRIANGULAR STRESS INDEX (SI)	C	15 \pm 2	17 \pm 2	15 \pm 2	13 \pm 3	16 \pm 3	13 \pm 3	0.284	0.828	0.658
	NSAIDs	15 \pm 2	15 \pm 2	15 \pm 3	16 \pm 3	12 \pm 4	14 \pm 4			
STD HR	C	4 \pm 0.3	4 \pm 0.3	5 \pm 0.4	4 \pm 1	5 \pm 1	4 \pm 1	0.285	0.134	0.586
	NSAIDs	5 \pm 0.3	5 \pm 0.3	5 \pm 1	5 \pm 0.5	5 \pm 1	4 \pm 1			
TINN	C	3 \pm 0.3	3 \pm 0.2	3 \pm 0.4	2 \pm 1	2 \pm 0.5	1 \pm 0.3	0.233	0.476	0.918
	NSAIDs	3 \pm 1	3 \pm 1	3 \pm 1	3 \pm 0.3	2 \pm 1	2 \pm 1			
TINN	C	486 \pm 30	447 \pm 34	367 \pm 27	345 \pm 89	492 \pm 108	335 \pm 70	0.638	0.263	0.512
	NSAIDs	434 \pm 32	411 \pm 32	405 \pm 35	449 \pm 51	364 \pm 114	372 \pm 104			

AINEs, anti-inflamatórios não esteroidais. *Indica diferenças significativas entre cavalos do grupo controle e os tratados com AINEs. C, controle. AINEs, meloxicam. Cavalos que receberam meloxicam administrado por via oral na dose de 0,6 mg/kg por dia durante 3 dias antes da injeção de LPS.

Tabela 7: Valores médios \pm erro padrão da média (EPM) das métricas do domínio da frequência e não lineares registradas em um período curto de 5 minutos em cavalos submetidos à indução experimental de sinovite transitória pela injeção de 10 EU de LPS de E. coli 055:B5 na articulação do carpo médio.

5 - MINUTES FREQUENCY-DOMAIN MEASURES										
VARIABLES	Groups	Timepoints						Times	P VALUE	
		Baseline	2	4	8	24	48		Groups	Time*Groups
HF (ms ²)	C	884±265	1600±496	816±172	1401±463	1182±409	1364±580	0.054	0.710	0.940
	NSAIDs	967±447	2063±838	647±116	1905±1086	992±642	849±378			
HF (n.u)	C	41±4	49±5	44±3	44±6	39±4	42±10	0.621	0.515	0.974
	NSAIDs	35±11	42±8	42±7	43±5	32±10	31±10			
LF (ms ²)	C	2012±556	2827±803	1194±155	2043±903	6690±3269	2749±1208	0.318	0.173	0.222
	NSAIDs	1511±693	2617±1394	1193±358	1954±407	1389±786	2723±1718			
LF (n.u)	C	59±5	53±5	55±4	56±4	64±4	60±11	0.422	0.189	0.962
	NSAIDs	68±4	67±3	57±4	48±15	35±5	72±5			
LF/HF (ms ²)	C	2±0.3	1±0.3	2±0.1	2±0.3	2±0.3	2±0.5	0.318	0.109	0.933
	NSAIDs	2±0.5	2±0.3	2±0.3	2±0.3	2±1	2±1			
FFT- HF (ms ²)	C	1105±365	2234±511	729±133	1857±1153	1880±797	1682±504	0.135	0.086	0.912
	NSAIDs	549±261	1285±579	748±283	1638±405	655±412	918±368			
FFT- HF (n.u)	C	44±3	46±4	41±3	41±4	40±3	47±10	0.985	0.484	0.704
	NSAIDs	33±11	38±6	42±5	46±5	31±10	34±10			
FFT- LF (ms ²)	C	1641±519	3611±1147	1181±173	2386±1211	3908±2014	2287±914	0.163	0.358	0.813
	NSAIDs	1862±917	3004±1771	1374±488	2125±370	1404±988	1860±882			
FFT – LF (n.u)	C	56±5	58±4	57±5	57±3	64±6	56±11	0.919	0.313	0.971
	NSAIDs	59±10	65±6	59±6	60±6	54±13	45±11			
FFT- LF/ HF (ms ²)	C	1±0.2	1±0.2	2±0.3	2±0.2	2±0.3	2±0.5	0.869	0.145	0.743
	NSAIDs	2±1	2±1	2±0.3	2±0.3	2±1	2±1			
VARIABLES	NON LINEAR MEASURES							P .VALUE		
SD1	C	62±5	99±11	52±7	33±4	43±10	28±4	0.423	0.094	0.646
	NSAIDs	38±4*	78.4±6	48±4	23±8	37±6	23±3			
SD2	C	98±8	115±15	80±9	81±13	45±12	42±7	0.249	0.689	0.768
	NSAIDs	67±2	138±22	76±11	53±17	35±11	38±6			

AINEs, anti-inflamatórios não esteroidais. *Indica diferenças significativas entre cavalos do grupo controle e os tratados com AINEs. C, controle. AINEs, meloxicam. Cavalos que receberam meloxicam administrado por via oral na dose de 0,6 mg/kg por dia durante 3 dias antes da injeção de LPS.

Tabela 8: Valores médios \pm erro padrão da média (EPM) das métricas do domínio da frequência e não lineares registradas em um período curto de 30 minutos em cavalos submetidos à indução experimental de sinovite transitória pela injeção de 10 EU de LPS de E. Coli 055:B5 na articulação do carpo médio.

30 - MINUTES – FREQUENCY DOMAIN MEASURE										
Timepoints								P VALUE		
VARIABLES	Groups	Baseline	2	4	8	24	48	Times	Groups	Time*Groups
HF (ms ²)	C	1027 \pm 201	1572 \pm 514	1159 \pm 330	1290 \pm 612	1090 \pm 384	1329 \pm 295	0.443	0.034	0.485
	NSAIDs	722 \pm 158	781 \pm 143*	887 \pm 213	988 \pm 255	832 \pm 513	1169 \pm 456			
HF (n.u)	C	34 \pm 3 ^a	39 \pm 7 ^{ab}	42 \pm 6 ^{ab}	33 \pm 7 ^a	31 \pm 4 ^b	36 \pm 5 ^{ab}	0.022	0.004	0.075
	NSAIDs	30 \pm 3	28 \pm 3*	31 \pm 5*	33 \pm 5*	26 \pm 9	32 \pm 6			
LF (ms ²)	C	2252 \pm 424	2379 \pm 463	1708 \pm 359	1890 \pm 755	3118 \pm 1347	1771 \pm 480	0.206	0.683	0.488
	NSAIDs	2235 \pm 402	2181 \pm 336	1839 \pm 488	2531 \pm 814	2351 \pm 1120	2795 \pm 1517			
LF (n.u)	C	66 \pm 4	62 \pm 6	58 \pm 6	52 \pm 11	72 \pm 3	56 \pm 12	0.009	0.052	0.487
	NSAIDs	73 \pm 4	73 \pm 3*	62 \pm 9	68 \pm 6	58 \pm 14	60 \pm 13			
LF/HF (ms ²)	C	2 \pm 0.2	2 \pm 0.4	2 \pm 0.3	1 \pm 0.4	3 \pm 0.4	2 \pm 0.4	0.127	0.014	0.783
	NSAIDs	3 \pm 0.4*	3 \pm 0.4*	3 \pm 0.5*	3 \pm 0.5*	3 \pm 1	3 \pm 1			
FFT- HF (ms ²)	C	1073 \pm 200	1589 \pm 513	1195 \pm 332	1402 \pm 668	1128 \pm 400	1443 \pm 344	0.411	0.030	0.528
	NSAIDs	744 \pm 166	839 \pm 152*	908 \pm 219	994 \pm 249*	879 \pm 532	1250 \pm 492			
FFT- HF (n.u)	C	36 \pm 3 ^{ab}	39 \pm 7 ^{ab}	41 \pm 5 ^a	34 \pm 8 ^a	31 \pm 4 ^b	37 \pm 5 ^{ab}	0.047	0.002	0.093
	NSAIDs	28 \pm 3*	28 \pm 3*	31 \pm 4*	33 \pm 5*	27 \pm 9	32 \pm 6			
FFT- LF (ms ²)	C	2316 \pm 481	2368 \pm 421	1869 \pm 400	2066 \pm 856	3186 \pm 1382	1793 \pm 489	0.318	0.984	0.574
	NSAIDs	2275 \pm 394	2297 \pm 352	2316 \pm 576	2507 \pm 776	2451 \pm 1148	3011 \pm 1638			
FFT – LF (n.u)	C	66 \pm 4 ^{ab}	62 \pm 6 ^{ab}	59 \pm 6 ^b	53 \pm 11 ^b	72 \pm 4 ^a	56 \pm 12 ^{ab}	0.097	0.002	0.076
	NSAIDs	72 \pm 4	73 \pm 4*	71 \pm 4*	68 \pm 6*	58 \pm 14	60 \pm 13			
FFT- LF/ HF (ms ²)	C	2 \pm 0.2	2 \pm 0.4	2 \pm 0.3	1 \pm 0.4	3 \pm 0.4	2 \pm 0.4	0.198	0.008	0.716
	NSAIDs	3 \pm 0.4*	3 \pm 0.4*	3 \pm 0.4*	3 \pm 0.4*	3 \pm 1	3 \pm 0.5			
VARIABLES	NON LINEAR MEASURES							P .VALUE		
SD1	C	45 \pm 4	90 \pm 4	43 \pm 9	41 \pm 2	46 \pm 11	31 \pm 2	0.215	0.022	0.740
	NSAIDs	33 \pm 2	77 \pm 6*	46 \pm 1	34 \pm 7	39 \pm 3	27 \pm 1*			
SD2	C	87 \pm 6	123 \pm 9	75 \pm 15	83 \pm 4	51 \pm 12	60 \pm 7	0.818	0.400	0.591
	NSAIDs	87 \pm 5	129 \pm 12	93 \pm 5	70 \pm 14	58 \pm 9	61 \pm 6			

AINEs, anti-inflamatórios não esteroidais. *Indica diferenças significativas entre cavalos do grupo controle e os tratados com AINEs. C, controle. AINEs, meloxicam. Cavalos que receberam meloxicam administrado por via oral na dose de 0,6 mg/kg diariamente durante 3 dias antes da injeção de LPS.

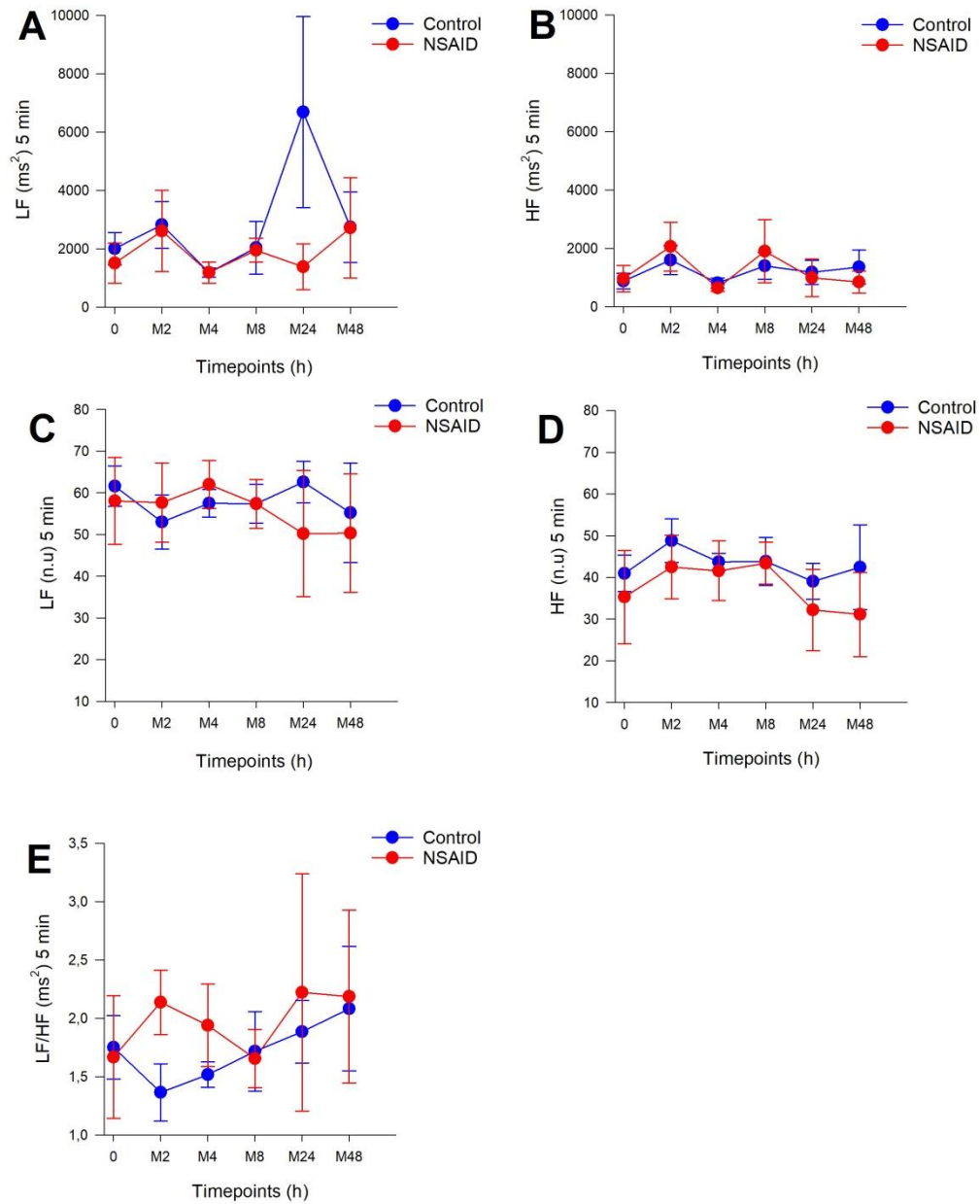


Figura 1: Média e erro padrão das variáveis do domínio de frequência relacionadas às análises de AR. A: LF 5 min; B: HF 5 min; C: LF (n.u) 5 min; D: HF (n.u) 5 min; E: LF/HF (ms^2) 5 min. Nenhuma diferença estatística foi encontrada entre os grupos.

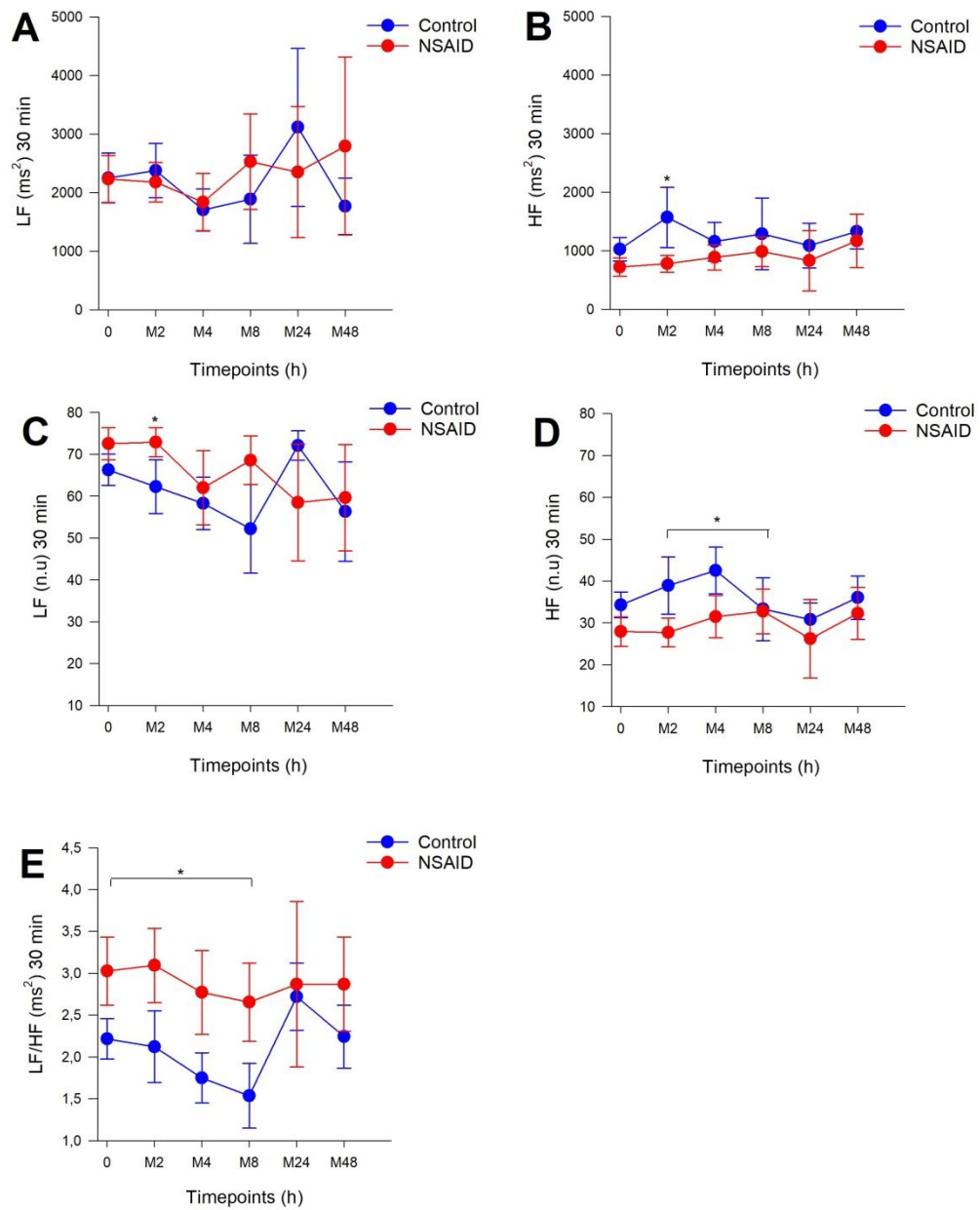


Figura 2: Média e erro padrão das variações do domínio de frequência relacionadas às análises de AR. A: LF 30 min; B: HF 30 min; C: LF (n.u) 30 min; D: HF (n.u) 30 min; E: LF/HF (ms^2) 30 min. * Representa diferença estatística entre os grupos experimentais.

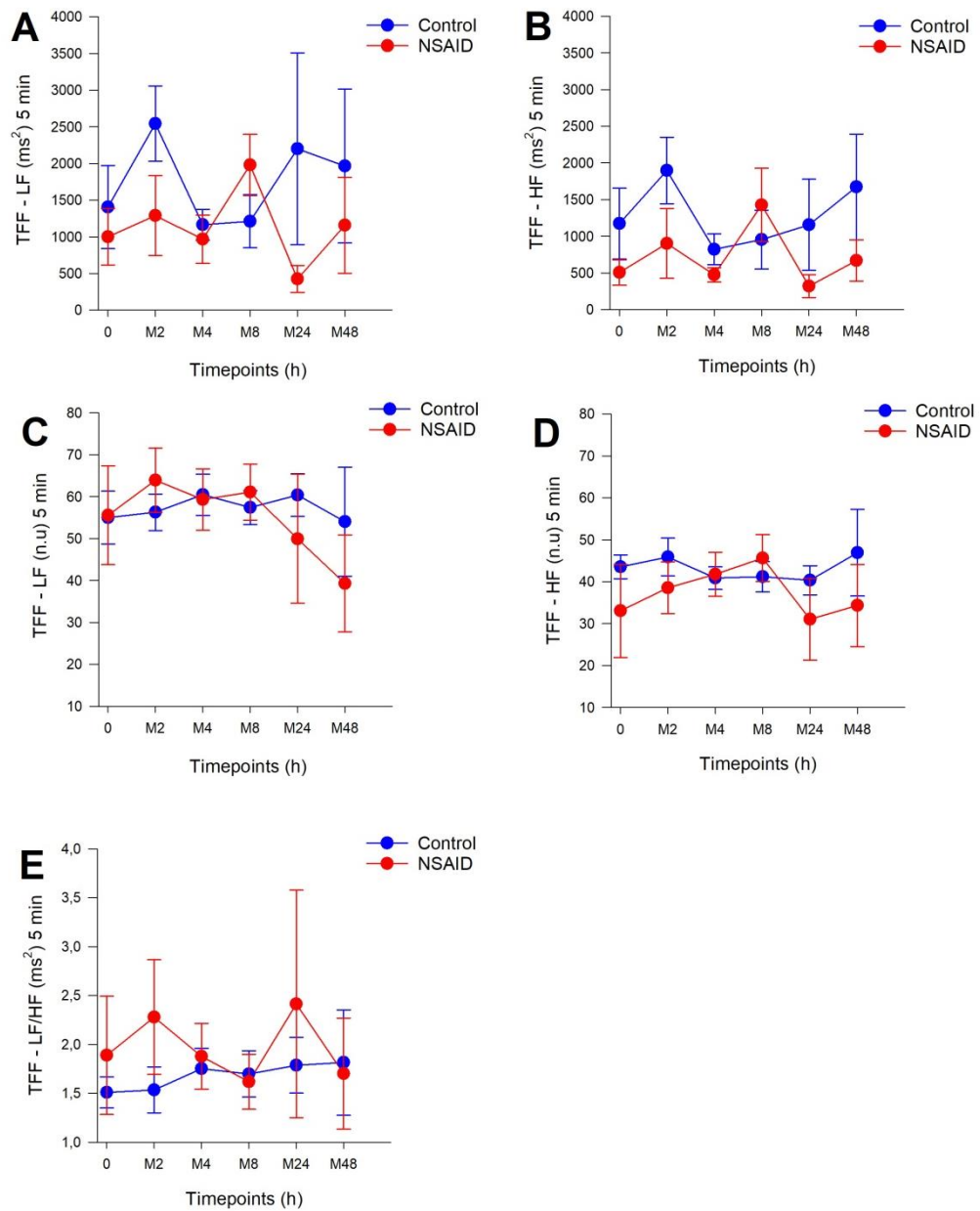


Figura 3: Média e erro padrão das variáveis do domínio de frequência relacionadas às análises da TFF. A: LF (ms^2) 5 min; B: HF (ms^2) 5 min; C: LF (n.u) 5 min; D: HF (n.u) 5 min; E: LF/HF (ms^2) 5 min. Não foram evidenciadas diferenças estatísticas.

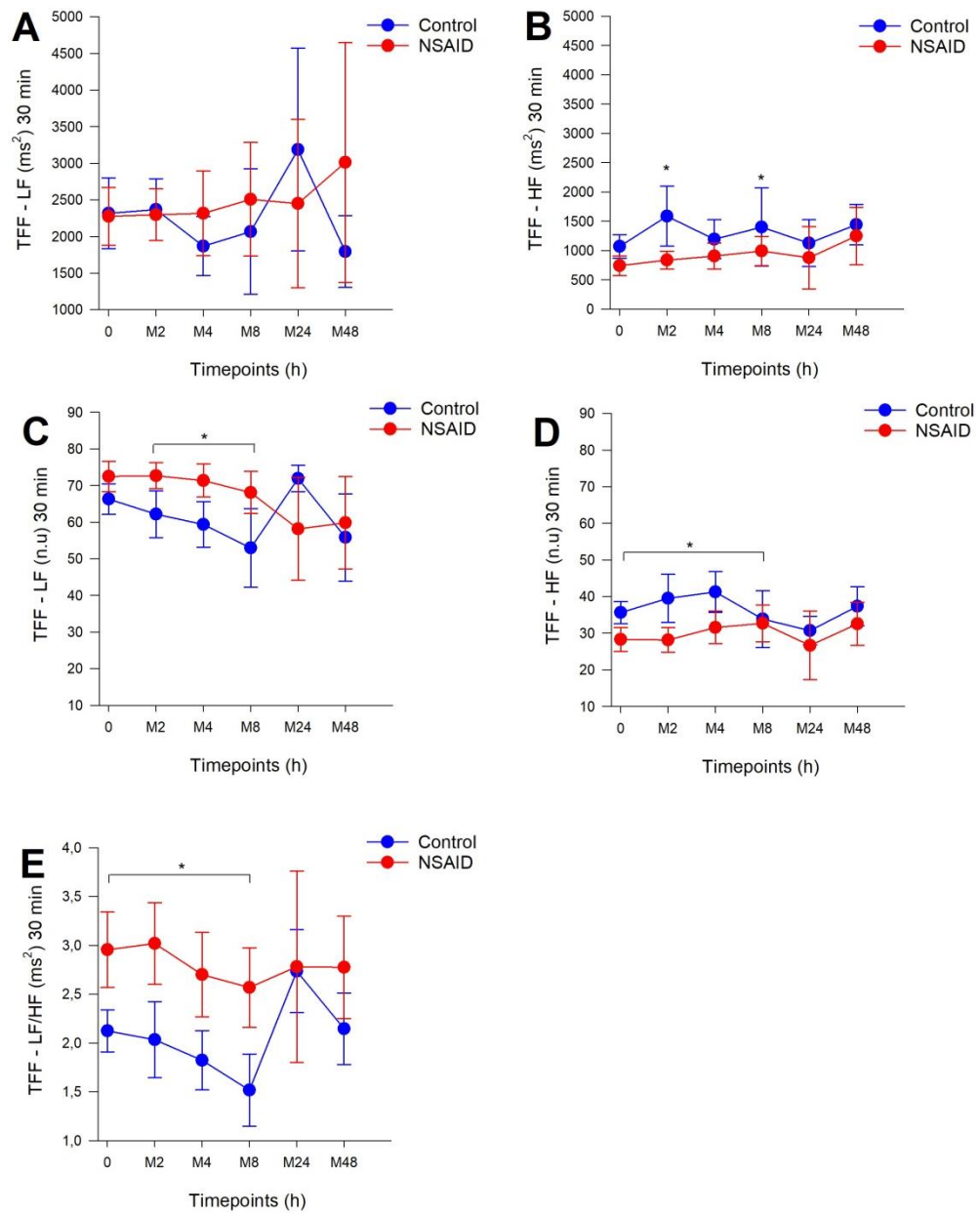


Figura 4: Média e erro padrão das variáveis do domínio da frequência relacionadas às análises do TFF. A: LF (ms^2) 30 min; B: HF (ms^2) 30 min; C: LF (n.u) 30 min; D: HF (n.u) 30 min; E: LF/HF (ms^2) 30 min. * Representa diferença estatística entre os grupos experimentais

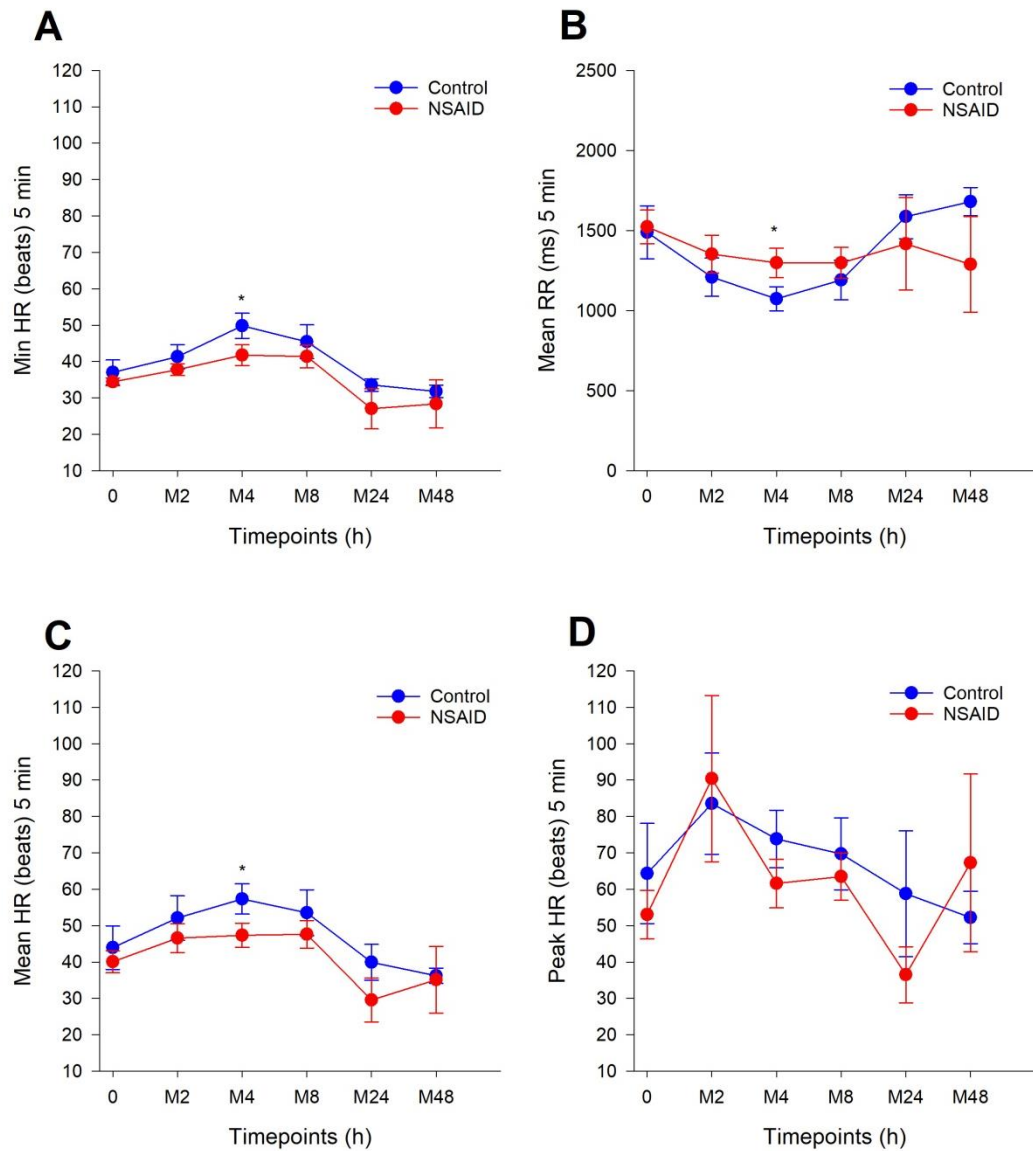


Figura 5: Média e erro padrão da média das variáveis do domínio do tempo relacionadas às análises das diferentes variáveis. A: Min HR. (Beats) 5 min; B: Mean RR (ms) 5 min; C: Mean HR (Beats) 5 min; D: Peak (pico) HR (Beats) 5 min. * Representa diferença estatística entre os grupos experimentais

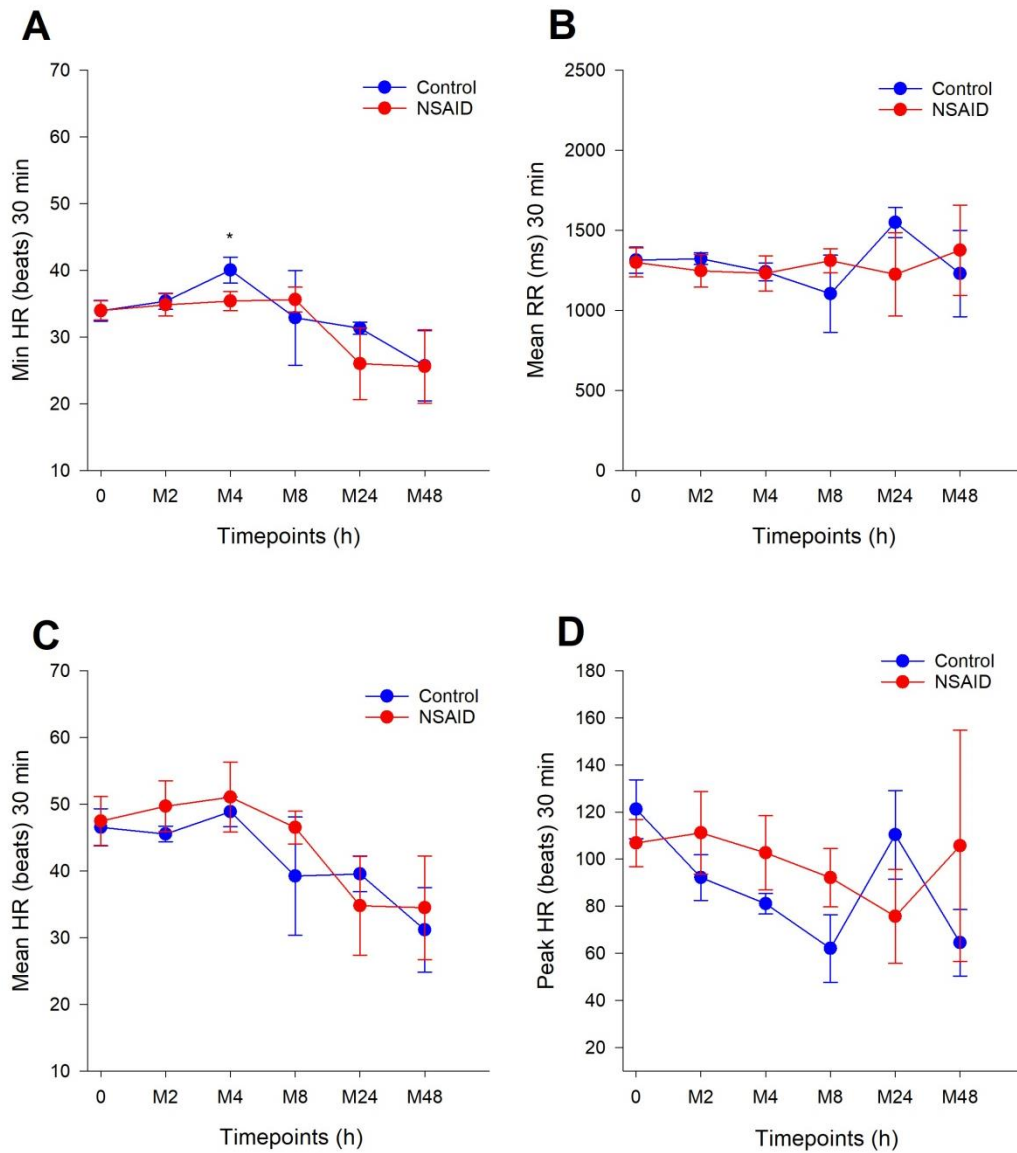


Figura 6: Média e erro padrão das variáveis do domínio do tempo relacionadas às análises das diferentes variáveis. A: Mín HR. (Beats) 30 min; B: Mean RR (ms) 30 min; C: Mean HR (Beats) 30 min; D: Peak (Pico) HR (Beats) 30 min. * Representa diferença estatística entre os grupos experimentais.

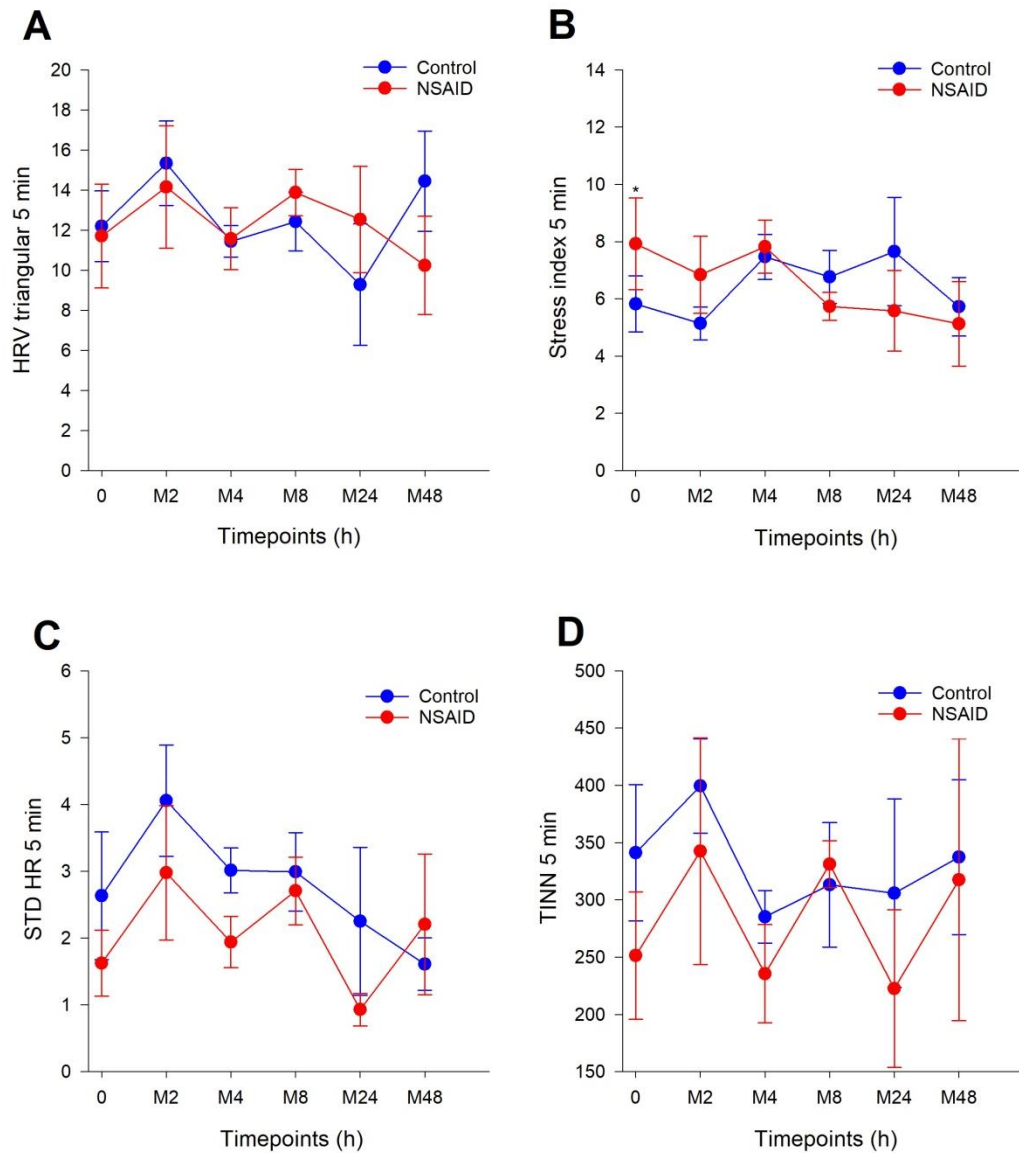


Figura 7: Média e erro padrão da média das variáveis do domínio do tempo relacionadas às análises das diferentes variáveis. A: Triangular HRV 5 min; B: Stress Index 5 min; C: STD HR 5 min; D: TINN 5 min.* Representa diferença estatística entre os grupos experimentais.

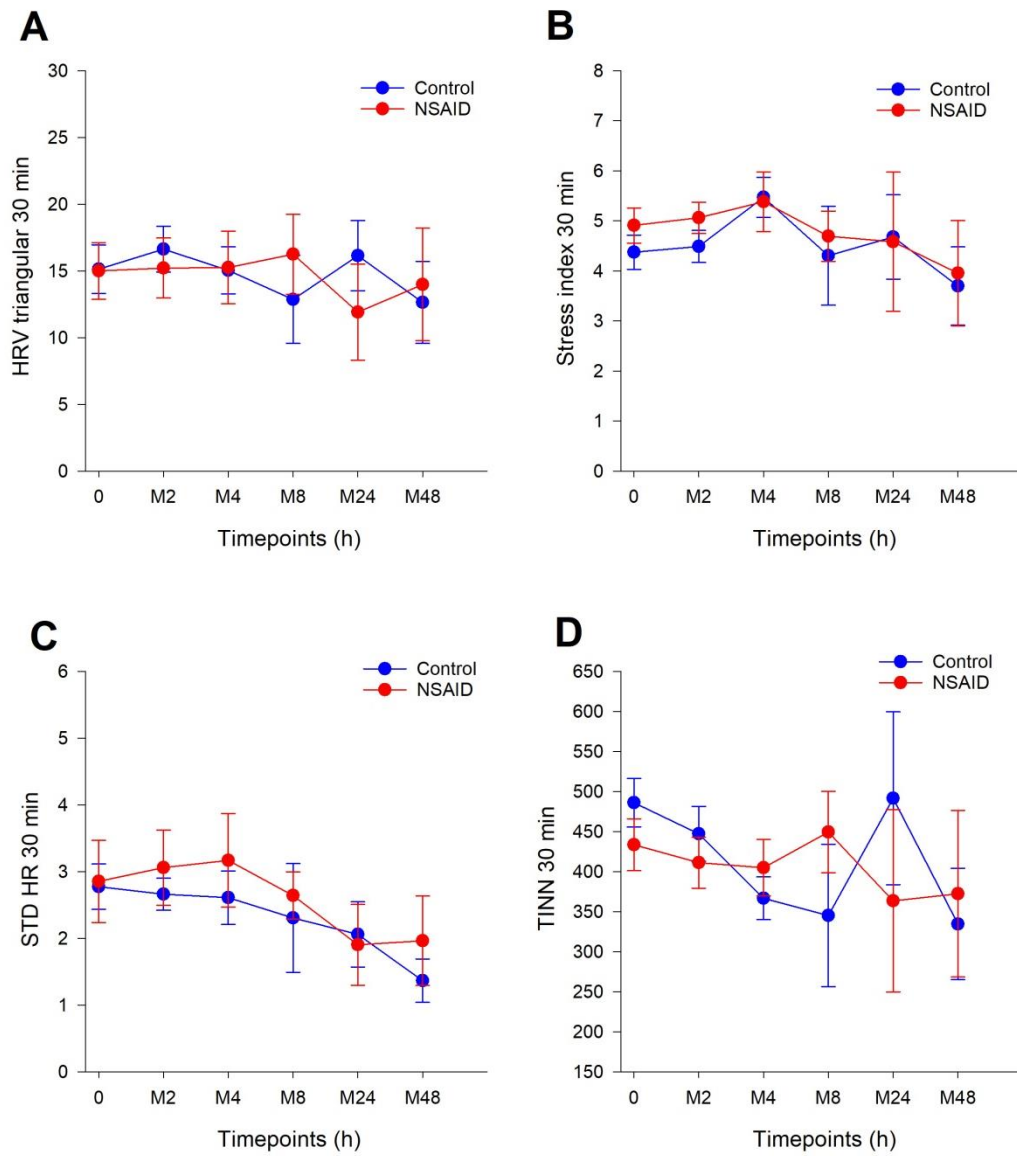


Figura 8: Média e erro padrão da média das variáveis do domínio do tempo relacionadas às análises das diferentes variáveis. A: HRV triangular 30 min; B: Índice de estresse 30 min; C: STD HR 30 min; D: TINN 30 min.

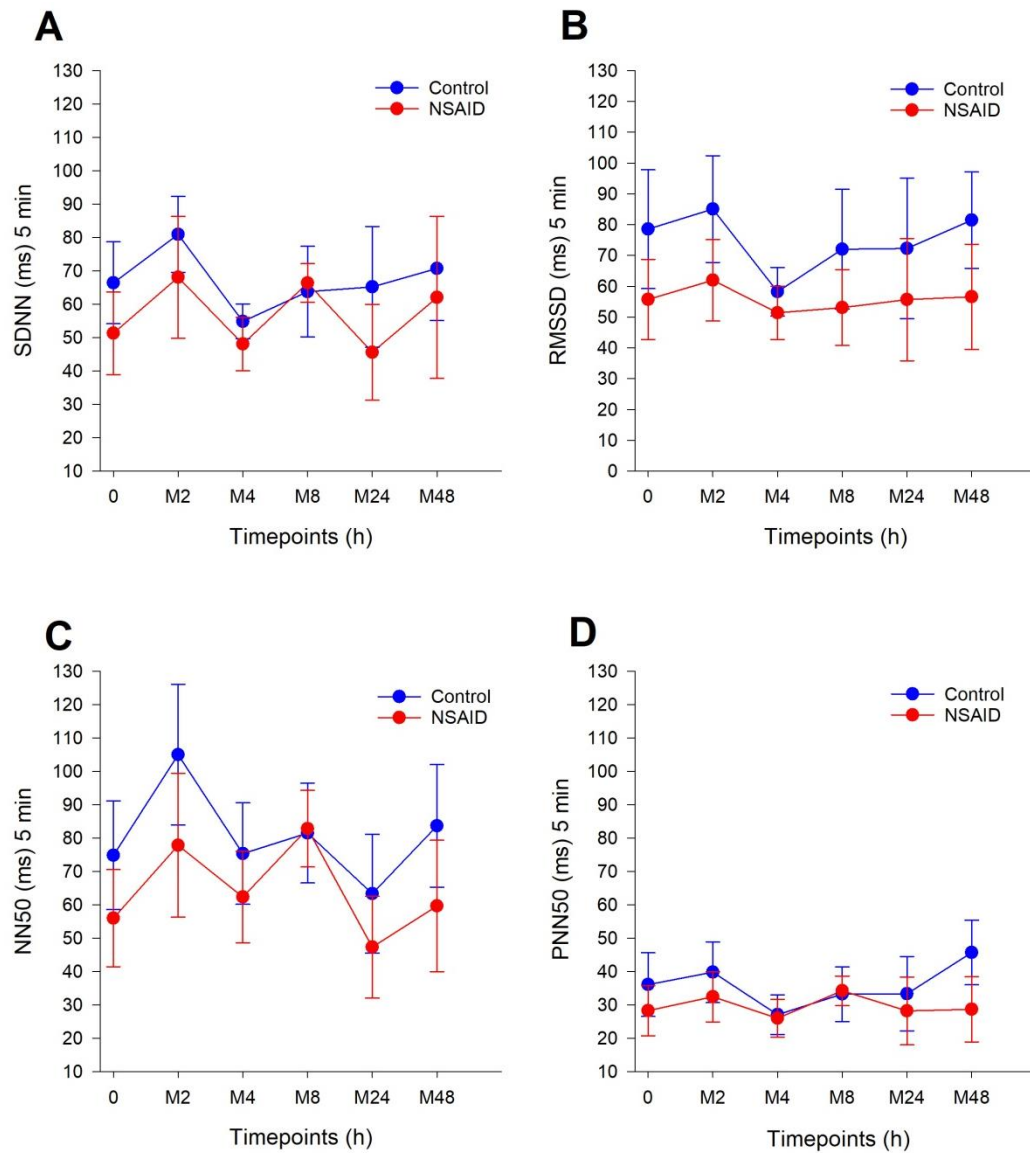


Figura 9: Média e erro padrão das variáveis do domínio do tempo relacionadas às análises das diferentes variáveis. A: SDNN (ms) 5 min; B: RMSSD (ms) 5 min; C: NN50 (ms) 5 min; D: PNN50 (ms) 5 min.

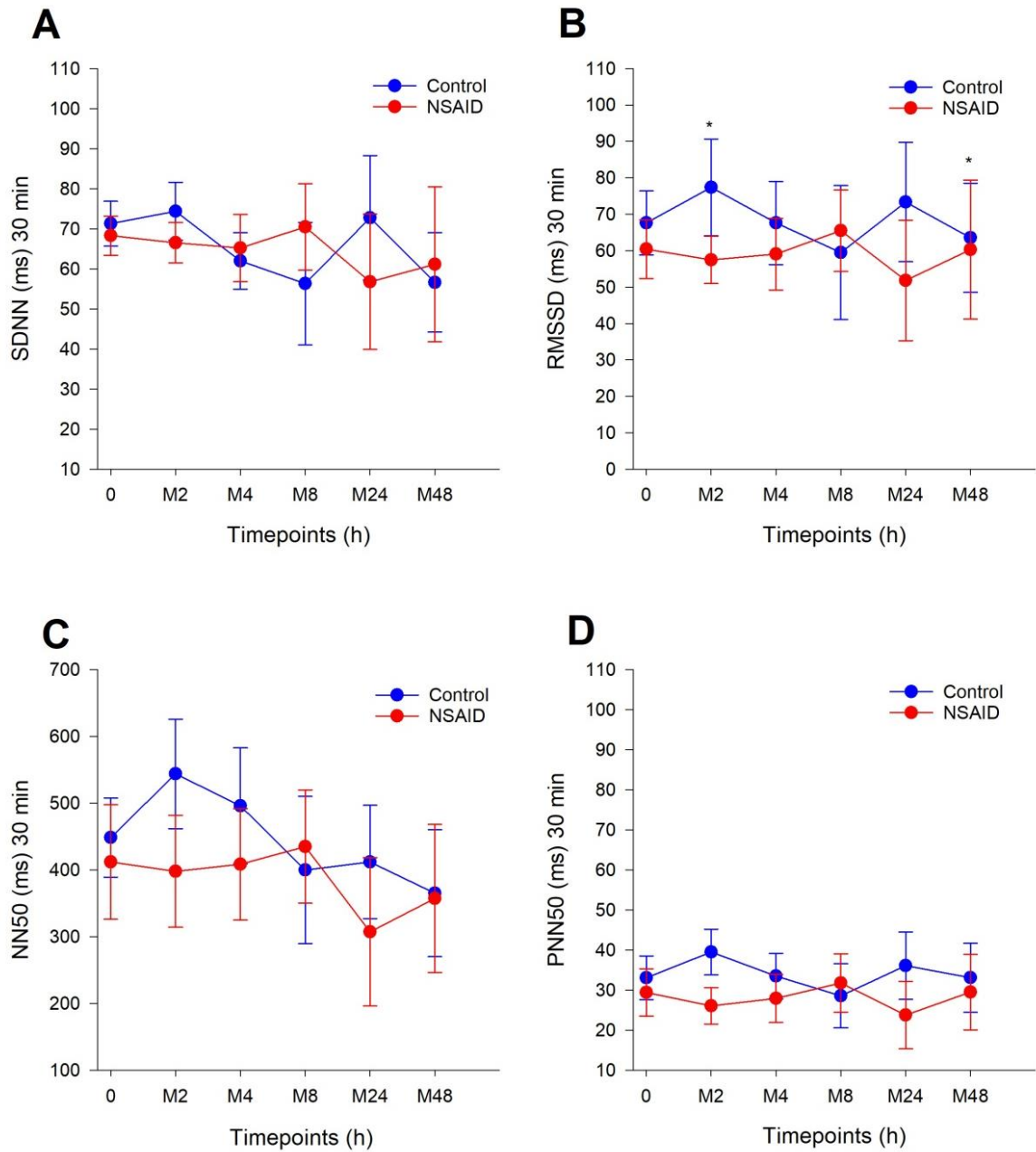


Figura 10: Média e erro padrão da média das variáveis do domínio do tempo relacionadas às análises das diferentes variáveis. A: SDNN (ms) 30 min; B: RMSSD (ms) 30 min; C: NN50 (ms) 30 min; D: PNN50 (ms) 30 min. *Representa diferença estatística entre os grupos experimentais.

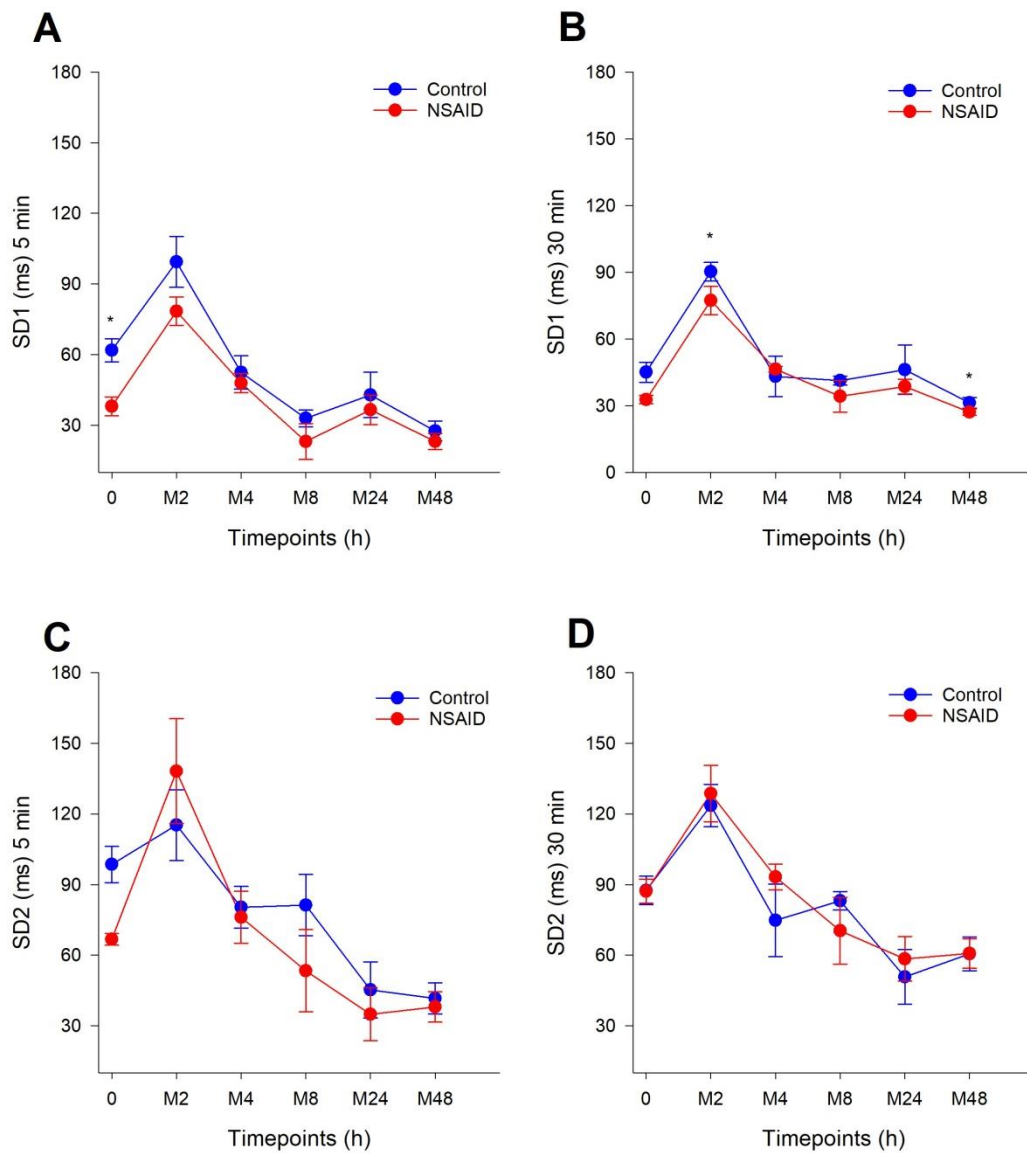


Figura 11: Média e erro padrão da análise das variáveis não lineares das diferentes variáveis comparando dois tempos de 5 e 30 minutos. A: SD1 (ms) 5 min; B: SD1 (ms) 30 min; C: SD2 (ms) 5 min; D: SD2 (ms) 30 min. * Representa diferença estatística entre os grupos experimentais.

2.4 DISCUSSÃO

Os cavalos utilizados neste estudo eram da universidade, geralmente acostumados a viver em grupos e a interagir com as pessoas. Embora nem todos sejam empregados para fins educacionais, muitos têm sido utilizados como recursos didáticos ao longo dos anos. Essa característica pode ter influenciado a heterogeneidade de alguns dados obtidos. Quanto à avaliação da dor, os cavalos também podem ser afetados na análise fisiológica da VFC quanto à sua resposta vagal, devido ao afastamento do rebanho, o que pode gerar ansiedade e mascarar a resposta à dor (Fureix et al., 2012). A predominância do sistema parassimpático em cavalos submetidos a terapias assistidas durante o acompanhamento de pessoas ou profissionais da área está associada a parâmetros fisiológicos indicativos de bem-estar, como a diminuição do cortisol e o aumento da VFC (Ayala et al., 2021).

Em estudo realizado por Reid et al. (2017), os autores descreveram que o aumento da frequência cardíaca não pode ser atribuído, por si só, a cavalos que estão apresentando dor somática. Entretanto, o aumento da FC e, conseqüentemente, a alteração na VFC, em cavalos sob influência de ansiedade, podem mascarar os sinais fisiológicos de dor, como observado em um experimento que comparou dor com ansiedade e dor isolada. Em análise realizada por Rietmann et al. (2004), na qual foi examinada a VFC associada à dor da laminite crônica, ficou evidente que a analgesia reduziu o componente da banda LF da VFC e aumentou a potência da HF.

O aumento na banda de potência LF é devido ao aumento na concentração de adrenalina, indicando a ativação do tônus simpático. O aumento na banda HF reflete o aumento no tônus parassimpático e corresponde à redução dos escores de dor (von Borell et al., 2007). Foi evidenciado que a aplicação ou o uso de AINEs aumenta o tônus vagal e diminui a LF (tônus simpático), além de reduzir a frequência de mudança de peso em cavalos com laminite ou dor ortopédica (Mercer et al., 2023). Nesta investigação, observou-se um aumento na banda de HF no grupo controle, o que pode estar relacionado à interrupção da frequência respiratória, que essa banda mede, ou à interferência causada pelo estresse ou ansiedade do ambiente, que também pode afetar essa banda. O componente HF é proporcional à atividade parassimpática e à profundidade da respiração.

As influências vagais ou parassimpáticas geralmente reduzem a frequência cardíaca, enquanto a atividade simpática causa seu aumento. Portanto, esses efeitos distintos do sistema nervoso autônomo (SNA) não podem ser descritos como simples adição ou subtração, pois ambos os componentes podem atuar de forma síncrona ou independente, resultando em efeitos semelhantes. A redução da frequência cardíaca pode ser causada pelo aumento da atividade parassimpática, pela diminuição do tônus simpático ou, na maioria dos casos, por uma combinação de ambos, o que indica uma busca contínua pela homeostase fisiológica (Stucke et al., 2015b).

Tanto em seres humanos quanto em animais não humanos, sabe-se que a potência de HF diminui e a relação LF/HF aumenta após um estímulo doloroso, indicando redução da atividade parassimpática e aumento da atividade simpática. No entanto, estudos em cavalos mostraram que a alteração no equilíbrio vagal-simpático desencadeada pela dor pode ocorrer em qualquer direção (Stucke et al., 2015b). Em duas análises, nas quais a influência de um estímulo nociceptivo foi comparada à VFC durante um procedimento cirúrgico com anestesia geral, ficou evidente um aumento na banda LF e uma diminuição na HF, o que pode ser alterado por outros estímulos vagais desencadeados por outras vias (Oel et al., 2010).

Nas avaliações de curto prazo da VFC, com medidas em intervalos de 5 minutos, podem ser observados processos que se sobrepõem na relação dinâmica entre os ramos simpático e parassimpático e a arritmia sinusal respiratória (ASR), devido à aceleração e desaceleração do coração impulsionada pela respiração através do nervo vago, o que faz com que os intervalos entre os complexos RR mudem ligeiramente (Shaffer & Ginsberg, 2017).

A VFC tem sido utilizada em cavalos com doença gastrointestinal aguda que necessitaram de laparotomia exploratória, sendo associada à redução da VFC como método não invasivo e preditor de sobrevivência em cavalos com diagnóstico de doença gastrointestinal isquêmica. Essa redução foi comparada à frequência cardíaca (FC) na admissão, quando elevada, e na alta, considerando o domínio do tempo da VFC em relação à FC (McConachie et al., 2016).

2.5 CONCLUSÃO

Algumas variáveis da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) são mais sensíveis para avaliar a inflamação e o estresse associados à dor, sendo as variáveis do domínio do tempo as mais indicadas para evidenciar a inflamação. Este estudo teve como objetivo avaliar as respostas simpátovagais dentro dos parâmetros da VFC, com a implementação preventiva de AINEs em um modelo experimental de indução de sinovite transitória. A diminuição da VFC e o aumento da relação LF/HF podem ser indicativos de inflamação ativa, reforçando a importância do rastreamento preciso em avaliações clínicas. Além disso, a utilização da VFC contribuiu para a identificação da mitigação da dor inflamatória em equinos, demonstrando seu potencial na prática clínica. No entanto, são necessários mais estudos sobre o uso da variabilidade da frequência cardíaca com equipamentos portáteis para medir a inflamação em animais, tanto em ambientes controlados quanto naturais.

2.6 REFERÊNCIAS

- AYALA, M. D.; CARRILLO, A.; INIESTA, P.; FERRER, P.** Pilot study of the influence of equine assisted therapy on physiological and behavioral parameters related to welfare of horses and patients. *Animals*, v. 11, n. 12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11123527>.
- BILLMAN, G. E.** Heart rate variability - A historical perspective. *Frontiers in Physiology*, v. 2, nov. 2011. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2011.00086>.
- CAMPEBELL, R. C.; PEIRÓ, J. R.; ROSA, P. C. S.; VALADÃO, C. A. A.; BECHARA, G. H.** Endotoxemia por lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* em equinos: efeitos de antiinflamatórios nas concentrações sérica e peritoneal do fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, n. 4, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0102-09352007000400003>.
- CARVALHO, J. R. G. et al.** Functional infrared thermography imaging can be used to assess the effectiveness of Maxicam Gel® in pre-emptively treating transient synovitis and lameness in horses. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 11, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1399815>.
- CLASS OF, U.; BANSE, H.; CRIBB, A. E.; ATKINSON, B.; BARKER, J.; BOHLENDER, B.; ANNE BRUCE, L.; CLARK, C.; COULOMBE, A.; CZAPSKI, C.; DUVAL, J.; ENGBERS, S.; ENZIE, J.; FICK, L.; FISCHER, C.; FREDERICK, J.; FRIEDT, H.; HODGES, E.; JAKOBSEN, P.; WOROBETS, M.** Comparative efficacy of oral meloxicam and phenylbutazone in 2 experimental pain models in the horse. *CVJ*, v. 58, 2017.
- DESANTANA, J. M.; PERISSINOTTI, D. M. N.; OLIVEIRA JUNIOR, J. O.; CORREIA, L. M. F.; OLIVEIRA, C. M.; FONSECA, P. R. B.** Definition of pain revised after four decades. *Brazilian Journal of Pain*, v. 3, n. 3, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5935/2595-0118.20200191>.
- DESCOVICH, K. A.; WATHAN, J.; LEACH, M. C.; BUCHANAN-SMITH, H. M.; FLECKNELL, P.; FARNINGHAM, D.; VICK, S. J.** Facial expression: An under-utilized tool for the assessment of welfare in mammals. *Altex*, v. 34, n. 3, 2017. DOI: <https://doi.org/10.14573/altex.1607161>.
- DONG, J. G.** The role of heart rate variability in sports physiology (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, v. 11, n. 5, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3104>.
- FUREIX, C.; JEGO, P.; HENRY, S.; LANSADE, L.; HAUSBERGER, M.** Towards an ethological animal model of depression? A study on horses. *PLoS ONE*, v. 7, n. 6, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039280>.
- HERNÁNDEZ-AVALOS, I.; FLORES-GASCA, E.; MOTA-ROJAS, D.; CASAS-ALVARADO, A.; MIRANDA-CORTÉS, A. E.; DOMÍNGUEZ-OLIVA, A.** Neurobiology of anesthetic-surgical stress and induced behavioral changes in dogs and cats: A

review. *Veterinary World*, v. 14, n. 2, 2021. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.393-404>.

HERNÁNDEZ-AVALOS, I.; MOTA-ROJAS, D.; MORA-MEDINA, P.; MARTÍNEZ-BURNES, J.; CASAS ALVARADO, A.; VERDUZCO-MENDOZA, A.; LEZAMA-GARCÍA, K.; OLMOS-HERNÁNDEZ, A. Review of different methods used for clinical recognition and assessment of pain in dogs and cats. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, v. 7, n. 1, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/23144599.2019.1680044>.

HERNANDO, D.; ROCA, S.; SANCHO, J.; ALESANCO, Á.; BAILÓN, R. Validation of the Apple Watch for Heart Rate Variability Measurements during Relax and Mental Stress in Healthy Subjects. *Sensors*, v. 18, n. 8, p. 2619, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/s18082619>.

JACOBS, C. C.; SCHNABEL, L. V.; MCILWRAITH, C. W.; BLIKSLAGER, A. T. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in equine orthopaedics. *Equine Veterinary Journal*, v. 54, n. 4, 2022a. DOI: <https://doi.org/10.1111/evj.13561>.

JACOBS, C. C.; SCHNABEL, L. V.; MCILWRAITH, C. W.; BLIKSLAGER, A. T. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in equine orthopaedics. *Equine Veterinary Journal*, v. 54, n. 4, 2022b. DOI: <https://doi.org/10.1111/evj.13561>.

KANIA, B. F.; WROŃSKA, D.; BRACHA, U. Pain, Pathophysiological Mechanisms, and New Therapeutic Options for Alternative Analgesic Agents in Sheep: A Review and Investigation. *Animals*, v. 11, n. 3, p. 909, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11030909>.

KNYCH, H. K. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Use in Horses. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, v. 33, n. 1, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2016.11.001>.

KNYCH, H. K.; STEFFEY, E. P.; STANLEY, S. D. The effects of yohimbine on the pharmacokinetic parameters of detomidine in the horse. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, v. 39, n. 3, p. 221–229, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1467-2995.2011.00690.x>.

MCCONACHIE, E. L.; GIGUÈRE, S.; RAPOPORT, G.; BARTON, M. H. Heart rate variability in horses with acute gastrointestinal disease requiring exploratory laparotomy. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, v. 26, n. 2, p. 269–280, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/vec.12362>.

MERCER, M. A.; DAVIS, J. L.; MCKENZIE, H. C. The Clinical Pharmacology and Therapeutic Evaluation of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Adult Horses. *Animals*, v. 13, n. 10, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13101597>.

MITCHELL, K. J.; SCHWARZWALD, C. C. Heart rate variability analysis in horses for the diagnosis of arrhythmias. *Veterinary Journal*, v. 268, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2020.105590>.

OEL, C.; GERHARDS, H.; GEHLEN, H. Influence of nociceptive stimuli on heart rate variability in equine general anesthesia. *Pferdeheilkunde Equine Medicine*, v. 26, n. 2, 2010. DOI: <https://doi.org/10.21836/pem20100219>.

PLEWS, D. J.; LAURSEN, P. B.; STANLEY, J.; KILDING, A. E.; BUCHHEIT, M. Training adaptation and heart rate variability in elite endurance athletes: Opening the door to effective monitoring. *Sports Medicine*, v. 43, n. 9, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40279-013-0071-8>.

PRIEST, T. Chronic pain: mechanisms and treatment. *Current Opinion in Pharmacology*, v. 2, n. 3, p. 310–315, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1471-4892\(02\)00164-9](https://doi.org/10.1016/S1471-4892(02)00164-9).

RASHID, M.; SILVENTOINEN, A.; GLEERUP, K. B.; ANDERSEN, P. H. Equine facial action coding system for determination of pain-related facial responses in videos of horses. *PLoS ONE*, v. 15, nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231608>.

REID, K.; ROGERS, C. W.; GRONQVIST, G.; GEE, E. K.; BOLWELL, C. F. Anxiety and pain in horses measured by heart rate variability and behavior. *Journal of Veterinary Behavior*, v. 22, p. 1–6, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2017.09.002>.

RIETMANN, T. R.; STAUFFACHER, M.; BERNASCONI, P.; AUER, J. A.; WEISHAUPT, M. A. The association between heart rate, heart rate variability, endocrine and behavioural pain measures in horses suffering from laminitis. *Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine*, v. 51, n. 5, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2004.00627.x>.

RIGANELLO, F.; CHATELLE, C.; SCHNAKERS, C.; LAUREYS, S. Heart Rate Variability as an Indicator of Nociceptive Pain in Disorders of Consciousness? *Journal of Pain and Symptom Management*, v. 57, n. 1, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2018.09.016>.

SANTOS JÚNIOR, D. de A.; OLIVEIRA FILHO, E. F. de; MIRANDA NETO, E. G. de; ESCODRO, P. B. Efeitos adversos do uso prolongado de anti-inflamatórios não esteroidais inibidores da COX-2 em equinos: revisão. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 9, 2020. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7747>.

SHAFFER, F.; GINSBERG, J. P. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. *Frontiers in Public Health*, v. 5, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00258>.

SOILUVA, J.; HÄYRINEN, L.; GANGINI, G.; ÖISTÄMÖ, R.; GRACIA-CALVO, L. A.; RAEKALLIO, M. R. Comparison of Asymmetry During Trot In-Hand With Evaluations of Discomfort and Pain in Horses While Exercised. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 126, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2023.104282>.

STUCKE, D.; GROÙE RUSE, M.; LEBELT, D. Measuring heart rate variability in horses to investigate the autonomic nervous system activity - Pros and cons of different methods. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 166, n. 1, 2015a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.02.007>.

STUCKE, D.; GROÙE RUSE, M.; LEBELT, D. Measuring heart rate variability in horses to investigate the autonomic nervous system activity – Pros and cons of different methods. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 166, p. 1–10, 2015b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.02.007>.

VAN DE WATER, E.; OOSTERLINCK, M.; DUMOULIN, M.; KORTHAGEN, N. M.; VAN WEEREN, P. R.; VAN DEN BROEK, J.; EVERTS, H.; PILLE, F.; VAN DOORN, D. A. The preventive effects of two nutraceuticals on experimentally induced acute synovitis. *Equine Veterinary Journal*, v. 49, n. 4, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/evj.12629>.

VAN DE WATER, E.; OOSTERLINCK, M.; KORTHAGEN, N. M.; DUCHATEAU, L.; DUMOULIN, M.; VAN WEEREN, P. R.; OLIJVE, J.; VAN DOORN, D. A.; PILLE, F. The lipopolysaccharide model for the experimental induction of transient lameness and synovitis in Standardbred horses. *Veterinary Journal*, v. 270, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105626>.

VON BORELL, E.; LANGBEIN, J.; DESPRÉS, G.; HANSEN, S.; LETERRIER, C.; MARCHANT-FORDE, J.; MARCHANT-FORDE, R.; MINERO, M.; MOHR, E.; PRUNIER, A.; VALANCE, D.; VEISSIER, I. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals - A review. *Physiology and Behavior*, v. 92, n. 3, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.01.007>.

ZIEGLER, A.; FOGLE, C.; BLIKSLAGER, A. Update on the use of cyclooxygenase-2–selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 250, n. 11, 2017. DOI: <https://doi.org/10.2460/javma.250.11.1271>

CAPÍTULO 3: Considerações Finais

3.1 Impacto potencial desta pesquisa

A avaliação da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) na inflamação em equinos representa um avanço significativo para o bem-estar animal e para a pesquisa científica. Este projeto oferece uma ferramenta não invasiva e confiável para monitorar estados inflamatórios e de estresse em cavalos, além de fornecer uma base científica sólida para compreender as respostas fisiológicas à dor e à inflamação. A aplicabilidade desses métodos abre novas oportunidades para estudos futuros que avaliem o impacto de diferentes intervenções terapêuticas, como o uso de AINEs, otimizando os tratamentos e minimizando os efeitos colaterais. Essa abordagem favorece um manejo mais ético e eficaz do bem-estar equino, com o potencial de influenciar positivamente as políticas públicas relacionadas à saúde animal.

3.2 Potential impact of this research

The evaluation of heart rate variability (HRV) in inflammation in horses represents a significant advancement for animal welfare and scientific research. This project provides a non-invasive and reliable tool to monitor inflammatory and stress states in horses, as well as offering a solid scientific foundation for understanding physiological responses to pain and inflammation. The applicability of these methods opens new opportunities for future studies that assess the impact of different therapeutic interventions, such as the use of NSAIDs, optimizing treatments and minimizing side effects. This approach promotes a more ethical and effective management of equine welfare, with the potential to positively influence public policies related to animal health.