

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
Tese será disponibilizado somente a
partir de 24/10/2027.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
DEPTO. DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL**



**APLICABILIDADE DO EXERCÍCIO FÍSICO COMO MODELO
EXPERIMENTAL PARA INDUÇÃO DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA
AGUDA EM EQUINOS.**

Guilherme Barbosa da Costa

Jaboticabal-SP

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
DEPTO. DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL



**APLICABILIDADE DO EXERCÍCIO FÍSICO COMO MODELO
EXPERIMENTAL PARA INDUÇÃO DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA
AGUDA EM EQUINOS.**

Guilherme Barbosa da Costa

Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP,
Campus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Doutor em Ciências Veterinárias

Jaboticabal-SP

2025

C837a

Costa, Guilherme Barbosa da

Aplicabilidade do exercício físico como modelo experimental para indução de resposta inflamatória aguda em equinos. / Guilherme Barbosa da Costa. -- Jaboticabal, 2025

127 p. : il., tabs.

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

Orientador: Guilherme de Camargo Ferraz

1. Biomarcadores. 2. Dexametasona. 3. Equinos. 4. Exercício Físico. 5. Farmacologia. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Esta pesquisa apresenta impacto potencial relevante ao propor um modelo experimental minimamente invasivo para induzir resposta inflamatória aguda em equinos por meio do exercício físico controlado. Ao substituir protocolos dolorosos tradicionalmente usados em pesquisas inflamatórias, o método reforça os princípios dos 3Rs (substituição, redução e refinamento) e promove maior respeito ao bem-estar animal.

No âmbito científico, o estudo demonstra que o exercício intenso é capaz de gerar inflamação transitória monitorável por diversos biomarcadores, oferecendo um modelo seguro e reprodutível para testar a eficácia de anti-inflamatórios e aprimorar o entendimento de processos fisiológicos associados ao esforço físico.

Do ponto de vista social, contribui com práticas mais éticas na experimentação, além de beneficiar a equinocultura brasileira setor de grande relevância econômica e empregadora de milhões de pessoas ao melhorar o manejo e a avaliação de saúde de equinos atletas e de trabalho.

Quanto ao impacto econômico, o modelo pode reduzir custos e otimizar o desenvolvimento de novos fármacos veterinários, estimulando inovação tecnológica e fortalecendo a indústria de saúde animal.

A pesquisa se alinha diretamente aos ODS 3 (Saúde e Bem-Estar), ODS 9 (Indústria, Inovação e Infraestrutura), ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis) e ODS 15 (Vida Terrestre), promovendo ciência ética, sustentável e de impacto prático na sociedade.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This research presents relevant potential impact by proposing a minimally invasive experimental model to induce acute inflammatory response in horses through controlled physical exercise. By replacing traditionally painful protocols used in inflammation studies, this method reinforces the principles of the 3Rs (replacement, reduction, and refinement) and promotes greater respect for animal welfare.

From a scientific perspective, the study demonstrates that intense exercise can generate a transient inflammatory response measurable through several biomarkers, offering a safe and reproducible model for testing anti-inflammatory drugs and improving the understanding of physiological processes associated with physical effort.

In terms of social impact, it contributes to more ethical experimentation practices and benefits the Brazilian equine industry—a sector of major economic relevance—by improving the management and health assessment of athletic and working horses.

Regarding the economic impact, the proposed model may reduce costs and optimize the development of new veterinary drugs, stimulating technological innovation and strengthening the animal health industry.


This research aligns with the Sustainable Development Goals (SDGs), especially SDG 3 (Good Health and Well-Being), SDG 9 (Industry, Innovation, and Infrastructure), SDG 12 (Responsible Consumption and Production), and SDG 15 (Life on Land), promoting ethical, sustainable, and socially relevant science.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA TESE: APLICABILIDADE DO EXERCÍCIO FÍSICO COMO MODELO EXPERIMENTAL PARA INDUÇÃO DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA AGUDA EM EQUINOS

AUTOR: GUILHERME BARBOSA DA COSTA
ORIENTADOR: GUILHERME DE CAMARGO FERRAZ


Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciências Veterinárias, área: Saúde Animal pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **GUILHERME DE CAMARGO FERRAZ**
Data: 24/10/2025 15:21:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


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

Documento assinado digitalmente
 **PAULO ALESCIO CANOLA**
Data: 24/10/2025 16:40:48-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


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

Documento assinado digitalmente
 **WALTER HEINZ FERINGER JUNIOR**
Data: 24/10/2025 15:47:19-0300
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
 **PAOLA CASTRO MORAES**
Data: 24/10/2025 15:58:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. PAOLA CASTRO MORAES (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
 **DANIEL PAULINO JUNIOR**
Data: 24/10/2025 17:25:35-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. DANIEL PAULINO JUNIOR (Participação Virtual)
Departamento de Medicina Veterinária / Universidade de Franca (UNIFRAN) - Franca/SP

Jaboticabal, 24 de outubro de 2025.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Guilherme Barbosa da Costa — nascido em 15 de março de 1993, brasileiro, natural da cidade de Franca, estado de São Paulo, filho de Nivaldo Inácio da Costa e Elenice Barbosa da Costa. Médico Veterinário graduado pela Universidade de Franca, Franca-SP, em fevereiro de 2018, e registrado no CRMV-SP sob o n. 43.547.

No âmbito acadêmico, durante a graduação, no período de 2016 a 2017, realizou pesquisa (iniciação científica) sob orientação do Prof. Dr. Daniel Paulino Junior, com o projeto intitulado: “Análise de parâmetros hematimétricos e bioquímicos em equinos da raça quarto de milha atletas pré e pós-treinamento”. Concluiu o programa de Externship em 2017 no “WSEH” sob supervisão do Dr. Cole Sciba. Em agosto de 2020, obteve o título de mestre sob orientação do Prof. Dr. Jair Camargo Ferreira, com a dissertação intitulada: “Ação in vitro de diferentes apresentações do ozônio na inativação do *Pythium insidiosum* equino”, pela Universidade de Franca. Em seguida, concluiu, em abril de 2021, a especialização em Fisiologia do Exercício pela Universidade Cruzeiro do Sul – UNICSUL sob orientação do Prof. Me. Jefferson Comin Jonco Aquino Junior. Posteriormente, em agosto do mesmo ano, ingressou no programa de pós-graduação FCAV/UNESP, nível de doutorado, em Ciências Veterinárias, área de concentração Biociências aplicada a saúde animal, sob orientação do Prof. Dr. Guilherme de Camargo Ferraz, com o projeto intitulado: “Aplicabilidade do exercício físico como modelo experimental para indução de resposta inflamatória aguda em equinos”. Realizou, entre setembro de 2024 e novembro 2024, Estágio no Exterior (Sanduíche) na Universidade Nacional de La Plata sob supervisão do Prof. Dr. Pablo Trigo, com realização de projetos envolvendo cardiologia e farmacologia em equinos.

No âmbito profissional, foi clínico de equinos entre fevereiro de 2018 e setembro de 2019 na +Equinos – Clínica e Cirurgia de Equinos de Franca, além de pesquisador na JA Saúde Animal entre janeiro de 2020 e dezembro de 2021. Atualmente é docente na Faculdade Dr. Francisco Maeda — “FAFRAM” —, sendo responsável pelas disciplinas Clínica Médica de Equinos, Clínica Cirúrgica de Grandes Animais e Farmacologia e Terapêutica 1. É também docente no Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos “UNIFEB”, sendo responsável pelas disciplinas Clínica Médica de Grandes Animais, Clínica Cirúrgica de Grandes Animais e Produção de Bovinos de Leite e Corte.

Dedico

aos meus familiares e amigos, que foram pessoas imprescindíveis para a concretização desta pesquisa, a Deus por colaborar positivamente em todos os momentos e proporcionar ainda mais a busca por novas conquistas, e, por fim, dedico aos cavalos por serem iluminados e nos ensinarem a ter paciência e simplicidade a cada dia.

“Não reclame, não se explique. Apenas se apresente e faça o seu melhor. É isso. Está duro? Está difícil? Faça o seu melhor. Se apresente e faça o seu melhor.”

Bernardino

“Segundo Albert Einstein: Se você não consegue explicar simplesmente, você não entende bem o suficiente”

Prof. Dr. Daniel Zoccal – FOAr / UNESP

“Parafrazeando Guimarães Rosa: Eu quase que nada não sei. Mas desconfio de muita coisa”

Prof. Dr. Dantas - UFV

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus e a todas as energias que não conseguimos entender, mas que contemplam o mundo espiritual, por serem essenciais na realização de mais uma etapa.

À minha família, pelo apoio que me permitiu progredir nos meus estudos. À minha esposa, Gabriela Maia de Almeida, pela paciência nos momentos difíceis, pelo carinho e pelo amor sem limites.

À minha psicóloga, Marilia, que me auxiliou em todos os surtos e nas crises de ansiedade ocorridas durante esses anos.

Aos colegas de pós-graduação e alunos da graduação, para não esquecer ninguém, fica meu agradecimento coletivo. Muito obrigado! Todos vocês foram fundamentais. Em especial, agradeço ao amigo Ivan Dario Rodriguez Martinez, pela parceria e amizade incondicional, só nós sabemos como foram esses anos. Acredito que, sem o auxílio e os diálogos nos momentos de frustração, hoje não estaria aqui.

Aos funcionários da FCAV/UNESP – Jaboticabal, principalmente do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, em especial Ângela, Euclides e Odair “Deco” (setor de equinocultura), agradeço porque vocês foram essenciais para que tudo isso acontecesse. Aos profissionais que conheci ao longo destes anos, obrigada. Os ensinamentos e as dicas de como crescer profissionalmente a cada dia levarei comigo.

Aos professores, agradeço a todos pelo conhecimento adquirido nestes anos. Em especial, às professoras Luciane Helena Gargaglioni Batalhão, Paola Castro Moraes e Elisabeth Criscuolo Urbinati, pelas conversas nos corredores do departamento. Ao professor Paulo Alescio Canola, pela oportunidade no GEMEQUI foi um local de grande aprendizado.

À professora Lúcia Helena Faccioli, meu muito obrigado, principalmente pela oportunidade de aprender e utilizar seu laboratório na USP – Ribeirão Preto. Foi uma experiência muito enriquecedora.

Ao professor Pablo Ignacio Trigo, muito obrigado pela amizade e pela receptividade na Argentina. A convivência que tivemos durante o período de intercâmbio (sanduíche) foi de grande valia para o meu desenvolvimento acadêmico e profissional.

Ao grande mestre, professor Guilherme de Camargo Ferraz, corinthiano apaixonado, um cara que adora discussões fervorosas sobre política e um gênio quando se trata de lactato, o senhor foi um grande exemplo de como lidar com o mundo

acadêmico. Peço desculpas pelo meu temperamento difícil e por, às vezes, não saber pedir ajuda, mas agradeço pelas conversas: elas foram extremamente enriquecedoras. Espero que possamos manter um vínculo de parceria. Agradeço pela paciência, principalmente diante dos meus erros e confusões com os prazos do doutorado. O senhor é um grande mentor. Continue assim.

Finalizando, agradeço a todos, pois a colaboração de cada um foi fundamental para a formação, realização e produção deste estudo.

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

Muito obrigado!

SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	I
RESUMO	II
ABSTRACT	III
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
REFERÊNCIAS	9
CAPÍTULO 2 – Aplicabilidade do exercício físico como modelo experimental para indução de resposta inflamatória aguda em equinos.	16
Lista de abreviações	17
RESUMO	19
INTRODUÇÃO	20
MATERIAL E MÉTODOS	22
<i>Animais</i>	22
<i>Teste de esforço incremental (TEI)</i>	23
<i>Avaliação Clínica</i>	25
<i>Coleta de sangue e líquido sinovial</i>	26
<i>Avaliações termográficas</i>	27
<i>Avaliação de Eicosanoides</i>	28
<i>Análises estatísticas</i>	29
RESULTADOS	29
DISCUSSÃO	36
CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	41
CAPÍTULO 3 – Efeitos da dexametasona preemptiva em baixa dose sobre os eixos endócrino, metabólico e inflamatório em equinos submetidos a exercício intenso	50
Lista de abreviações	51
RESUMO	52
INTRODUÇÃO	54
MATERIAL E MÉTODOS	57
<i>Grupos experimentais e aplicação da dexametasona</i>	57
<i>Teste de esforço incremental</i>	60

<i>Coleta de sangue</i>	62
<i>Contagem de leucócitos e quantificação glicêmica</i>	63
<i>LC-MS para identificação de cortisol, cortisona, corticosterona e progesterona</i>	63
<i>Biópsia muscular para análise histopatológica por Hematoxilina e eosina</i>	65
<i>Análises estatísticas</i>	69
RESULTADOS	69
DISCUSSÃO	77
CONCLUSÃO	82
REFERÊNCIAS	82
CAPÍTULO 4 – Resposta do fator de ativação plaquetária em cavalos tratados com baixa dose de dexametasona e submetidos a exercício físico em esteira.	85
Lista de abreviações	86
RESUMO	87
INTRODUÇÃO	88
MATERIAL E MÉTODOS	89
<i>Grupos experimentais e aplicação do anti-inflamatório</i>	90
<i>Teste de esforço incremental (TEI)</i>	91
<i>Coleta de sangue</i>	92
<i>Preparação de amostras e extração do PAF</i>	94
<i>Quantificação por LC-MS</i>	95
<i>Análises estatísticas</i>	96
RESULTADOS	96
DISCUSSÃO	98
CONCLUSÃO	100
REFERÊNCIAS	100

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

- Figura 1-** Esquema elucidando as etapas do teste de esforço incremental (TEI) desde o aquecimento passando pelas etapas incrementais (E1 a E7 e finalizando com o desaquecimento, também segue elucidadas as etapas de intervalos entre cada momento de incremento de velocidade. **24**
- Supplementary material figure 1 -** Avaliação cardíaca dos equinos submetidos ao TEI do momento inicial até 1 hora após, evidenciando o momento do V200. **25**
- Figura 2.** Representação gráfica das médias \pm erro padrão de hemácias (**A**), hematócrito (**B**) e hemoglobina (**C**) de equinos submetidos ao TEI. Letras minúsculas indicam diferença significativa ao longo do tempo, sendo levado em consideração -24h como ponto inicial e sua correlação com os demais pontos de avaliação. '': referência há minutos; h: referência às horas; V200 momento em que animal atingiu 200 bpm **29**
- Figura 3.** Representação gráfica das médias \pm erro padrão de leucócitos totais (**A**), neutrófilos segmentados (**B**) e linfócitos (**C**) de equinos submetidos ao TEI. Letras minúsculas indicam diferença significativa ao longo do tempo, sendo levado em consideração -24h como ponto inicial e sua correlação com os demais pontos de avaliação. '': referência há minutos; h: referência às horas; V200 momento em que animal atingiu 200 bpm. **30**
- Figura 4.** Representação gráfica das médias \pm erro padrão de glicose (**A**) e lactato (**B**) de equinos submetidos ao TEI. Letras minúsculas indicam diferença significativa ao longo do tempo, sendo levado em consideração -24h como ponto inicial e sua correlação com os demais pontos de avaliação. '': referência há minutos; h: referência às horas; AQ: aquecimento; E1 a E6: etapas do teste; V200 momento em que animal atingiu 200 bpm; DESAQ: desaquecimento. **31**

Figura 5. Representação gráfica das médias \pm erro padrão da enzima CK de equinos submetidos ao TEI. Letras minúsculas indicam diferença significativa ao longo do tempo. min: referência há minutos; h: referência à horas. 32

Figura 6. Imagens termográficas da carúncula orbital do olho esquerdo (A) momento -24h, (B) momento 6h após o TEI e (C) 32h após o TEI, evidenciando as alterações térmicas ocorrentes. 34

Figura 7. Imagens termográficas do carpo esquerdo (A) momento -24h, (B) momento 6h após o TEI e (C) 32h após o TEI, evidenciando as alterações térmicas ocorrentes. 35

Figura 8. Representação gráfica das médias \pm erro padrão dos eicosanoides 11-HETE (**A**) e TBX2 (**B**) de equinos submetidos ao TEI, demonstrando a elevação ocorrente 6h após o exercício. 35

Capítulo 3

Figura 1. Modelo *crossover* e de aleatorização que demonstra que todos os animais passaram por todos os grupos experimentais, sendo dois animais iniciaram grupo controle após 4 semanas, foram do grupo DEX IV e após mais 4 semanas do grupo DEX IM. 59

Figura 2 - Esquema elucidando as etapas do teste de esforço incremental (TEI) desde o aquecimento passando pelas etapas incrementais (E1 a E7 e finalizando com o desaquecimento, também segue elucidadas as etapas de intervalos entre cada momento de incremento de velocidade. 61

Supplementary material figure 1 - Avaliação cardíaca dos equinos submetidos ao TEI do momento inicial até 1 hora após, evidenciando o momento do V200. 62

Figura 3 – Representação gráfica das médias \pm erro padrão do leucograma: neutrófilos segmentados (A), leucócitos totais (B), linfócitos (C) e monócitos (D) de equinos submetidos ao TEI (GC = Controle; GDex IV = 70

dexametasona por via intravenosa; GDex IV = dexametasona por via intramuscular). * Indica diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos GC e GDex IM; # indica diferença entre os grupos GC e GDex IV; \$ indica diferença entre os grupos GDex IM e GDex IV

Figura 4 – Representação gráfica das médias da glicose de equinos submetidos ao TEI sendo evidenciados os grupos experimentais em todo o período de coleta. * Indica diferença estatística entre os grupos GC e GDEX IM ($p < 0,05$). 71

Figura 5 – Representação gráfica das médias da análise do LC-MS do cortisol de equinos submetidos ao TEI (GC = Controle, GDEX = Dexametasona). * Indica diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$). 74

Capítulo 4

Figura 1- Esquema elucidando as etapas do teste de esforço incremental (TEI) desde o aquecimento passando pelas etapas incrementais (E1 a E7 e finalizando com o desaquecimento, também segue elucidadas as etapas de intervalos entre cada momento de incremento de velocidade. 92

Figura 2 – Fluxograma esquemático, adaptado de Sorgi et al. (2018) e Carvalho et al., (2023), do método de preparação, extração e quantificação do PAF 94

Figura 3 – Médias e erro padrão de todos os momentos durante o TEI até 1 hora após teste da frequência cardíaca (**A**) e concentração plasmática de lactato (**B**). Letras minúsculas significam diferença estatística ao longo do tempo, comparando os momentos em relação ao momento 0. 97

Figura 4 - Médias e erro padrão dos analitos Lyso PAF C16 (**A**), Lyso PAF C18(**B**), PAF C16 (**C**) e PAF C18 (**D**) de ambos os grupos experimentais em todos os momentos de análise durante o respectivo estudo. 98

LISTAS DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1. Valores de frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (TR) de equinos submetidos ao TEI, apresentados como média \pm erro padrão. **30**

Tabela 2. Contagem de células nucleadas (CTCN), proteína total (PT) e prostaglandina E₂ no líquido sinovial de equinos submetidos ao TEI, apresentados como média \pm erro padrão. **33**

Tabela 3. Representação das médias \pm erro padrão da termografia do membro torácico direito e esquerdo na posição dorso palmar de equinos submetidos ao TEI. **34**

Capítulo 3

Tabela 1 – Levantamento bibliográfico das doses mais utilizadas em estudos envolvendo dexametasona em equinos. **58**

Supplementary material Table 1 - Descrição histopatológica do escore utilizado para as análises **67**

Supplementary material Table 2 - Glicemia de equinos submetidos ao TEI e que receberam administração IV ou IM de dexametasona (GDEX IV e GDEX IM) ou não receberam tratamento (GC), apresentados como média \pm erro padrão. **72**

Supplementary Material Table 3 - Média e erro padrão dos hormônios detectados a partir da análise LC-MS. **75**

Tabela 2. Mediana e amplitude (mínimo – máximo) das variáveis histopatológicas, de cavalos submetidos ao TEI após aplicação preemptiva de dexametasona **76**

CERTIFICADO DA COMISSÃO ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "Avaliação dos efeitos inflamatórios induzidos pelo exercício físico em equinos submetidos a teste de esteira: nova fórmula de avaliação para anti-inflamatórios", protocolo nº 1435/2022, 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.

Vigância do Projeto	02/04/2022 a 30/07/2022
Espécie / Linhagem	Equina
Nº de animais	08
Peso / Idade	350 a 450 Kg
Sexo	Fêmeas e machos
Origem	FCAV

Jaboticabal, 31 de março de 2022.


Prof. Dra. Paola Castro Moraes
Vice-Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellani, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal - SP
(16) 3209-7100 www.fca.unesp.br

1 RESUMO

O exercício físico pode provocar alterações transitórias na homeostase de equinos, podendo desencadear resposta inflamatória aguda fisiológica. Avaliou-se a aplicabilidade do exercício físico como modelo experimental para indução do processo inflamatório, seis equinos adultos (15 ± 4 anos; 410 ± 44 kg) foram submetidos ao teste de esforço incremental (TEI), com avaliações clínicas, laboratoriais e histopatológicas realizadas antes, durante e após o exercício. Os animais foram utilizados em três grupos: controle (GC), dexametasona intravenosa (GDEXIV) e intramuscular (GDEXIM), com dose reduzida de 0,006 mg/kg administrada preemptivamente, 10 minutos antes do TEI, em delineamento *crossover* com *washout* de quatro semanas. Observaram-se alterações estatisticamente significativas, independente do grupo experimental, na temperatura retal ($p < 0,05$), glicemia (valores médios de até 125 mg/dL), lactatemia (até 9,3 mmol/L), leucocitose ($13,8 \times 10^3/\mu\text{L}$) e aumento da atividade da enzima CK (até 548 U/L). A termografia revelou incremento na temperatura da carúncula ocular (até 36,4 °C) e nos membros torácicos (articulação cárpica) (até 34,7 °C). Os eicosanoides 11-HETE e TBX2 apresentaram elevação após o esforço. Animais tratados com dexametasona demonstraram redução das concentrações de cortisol (até 38%) em ambos os grupos e progesterona (até 42%) no grupo GDEX IM. Não houve diferenças entre os grupos para cortisona, corticosterona e fator ativador de plaquetas (PAF). A análise histopatológica evidenciou infiltrado inflamatório em amostras musculares todos os grupos. Conclui-se que o exercício físico agudo induziu inflamação transitória em equinos, sendo modelo experimental com potencial para estudos farmacológicos e clínicos sobre a eficácia anti-inflamatória nesta espécie.

Palavras-chave: biomarcadores; dexametasona; equinos; exercício físico; farmacologia; inflamação.

ABSTRACT

Physical exercise can induce transient alterations in equine homeostasis, potentially triggering a physiological acute inflammatory response. The applicability of physical exercise as an experimental model for inducing inflammatory processes was evaluated. Six adult horses (15 ± 4 years; 410 ± 44 kg) were subjected to an incremental exercise test (IET), with clinical, laboratory, and histopathological assessments performed before, during, and after exercise. The animals participated in three groups: control (CG), intravenous dexamethasone (GDEX IV), and intramuscular dexamethasone (GDEX IM), using a reduced preemptive dose of 0.006 mg/kg administered 10 minutes prior to the IET, in a crossover design with a four-week washout period. Statistically significant changes were observed, regardless of experimental group, in rectal temperature ($p < 0.05$), blood glucose (mean values up to 125 mg/dL), blood lactate (up to 9.3 mmol/L), leukocytosis ($13.8 \times 10^3/\mu\text{L}$), and creatine kinase activity (up to 548 U/L). Thermography revealed an increase in ocular caruncle temperature (up to 36.4 °C) and in the thoracic limbs (carpal joint) (up to 34.7 °C). The eicosanoids 11-HETE and TBX2 increased after exercise. Dexamethasone-treated horses showed reduced cortisol concentrations (up to 38%) in both groups and decreased progesterone levels (up to 42%) in the GDEX IM group. No differences were found among groups for cortisone, corticosterone, or platelet-activating factor (PAF). Histopathological analysis revealed inflammatory cell infiltration in muscle samples from all groups. It is concluded that acute physical exercise induced transient inflammation in horses, supporting its use as an experimental model with potential applications for pharmacological and clinical studies on anti-inflammatory efficacy in this species.

Keywords: biomarkers; dexamethasone; inflammation; horses; physical exercise; pharmacology.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

Com o passar dos anos, a equinocultura vem evoluindo de forma crescente, sendo constatada semelhante evolução na medicina esportiva equina (Primiano, 2010). Tal fato ocorreu devido à modificação da função zootécnica dos equinos, passando de indivíduos destinados ao trabalho para animais usados nos esportes, com níveis de performance cada vez mais elevados. Para monitorar e acompanhar a aptidão aeróbia dos animais, novas técnicas de avaliação foram desenvolvidas e aprimoradas ao longo dos anos (Van Weeren, 2017).

O complexo do agronegócio do cavalo no Brasil tem se destacado como segmento econômico importante. O rebanho equino brasileiro é considerado o terceiro maior rebanho do mundo, com cerca de cinco milhões de cabeças. A evolução do mercado hípico vem ocorrendo, sendo que em 2006 a movimentação financeira estava em R\$ 7,5 bilhões reais. Em 2016, houve aumento para R\$ 16,15 bilhões, gerando 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (Lima et al., 2006; Arruda; Cintra, 2016). Aproximadamente 1% desses animais são utilizados em esportes equestres diversos, tais como hipismo, concurso completo de equitação, enduro, rédeas, apartação, vaquejada, polo, adestramento, entre outros (Sales, 2018).

Dados recentes indicam que o setor equestre brasileiro movimenta aproximadamente US\$ 48,18 milhões apenas no mercado de equipamentos para cavalos em 2024 (COGNITIVE MARKET RESEARCH, 2024). Além disso, o mercado brasileiro de inseminação equina gerou cerca de US\$ 29,4 milhões no mesmo ano, com perspectiva de crescimento contínuo até 2033 (GRAND VIEW RESEARCH, 2024). Esses números evidenciam a relevância econômica crescente da criação, manejo e performance de

equinos no Brasil, reforçando a aplicabilidade de modelos experimentais de exercício físico em equinos de desempenho.

A espécie equina pode ser modelo experimental valioso para estudar ajustes fisiológicos induzidos pelo exercício agudo, possíveis de serem monitorados e quantificados. No campo em questão, o cavalo pode funcionar como modelo biológico viável para análise de citocinas inflamatórias produzidas por uma única sessão de exercício intenso (Lee *et al.*, 2019).

Considerando estudo recente que descreveu a ocorrência do aumento da resposta de fase aguda em equinos submetidos a teste de esforço físico de alta intensidade (Assunção *et al.*, 2019), nosso grupo de pesquisa observou resposta de fase aguda em cavalos de polo submetidos a uma partida treino (Gondin *et al.*, 2013). Além disso, existe também relato sobre a influência do exercício físico na homeostase articular e tendínea, sendo uma forma de determinar processos inflamatórios decorrentes da carga de exercício (Te Moller; Van Weeren, 2017).

A partir do exposto, pressupõe-se que a utilização do teste de esforço para gerar alterações reversíveis na homeostase dos equinos seja ferramenta auxiliar de pesquisadores para avaliar mudanças fisiológicas em diferentes sistemas, incluindo a resposta inflamatória (De Solis, 2019).

Na medicina esportiva equina, o teste de esforço incremental (TEI) é um dos principais métodos de avaliação. Eles podem ser realizados tanto a campo quanto em esteira. Também se evidenciam análises de frequência cardíaca e lactato, pois, a partir delas, é possível estipular níveis de desempenho, além de prescrever cargas externas (velocidade, tempo, altura do salto) e internas (% da FC e valores de lactatemia) (Munsters *et al.*, 2014; Allen *et al.*, 2016). Em adição, é possível realizar estudo da cinética enzimática sérica da enzima creatina fosfoquinase, biomarcador muscular que

verifica o grau de aumento da permeabilidade sarcoplasmática (Cerqueira et al., 2018). Ademais, quando pensamos em metabolismo oxidativo, há a possibilidade de avaliar o consumo de oxigênio VO_2 (Allen et al., 2016).

O exercício induz ajustes metabólicos e fisiológicos transitórios, que são similares à resposta estressante. Há elevação de variáveis hematológicas e cardiovasculares, como o hematócrito e a frequência cardíaca, bem como de parâmetros metabólicos e inflamatórios, como glicose, lactato e interleucina-6 muscular e plasmática, os quais, em última instância, podem indicar condições mórbidas associadas a processos patológicos. No entanto, processos fisiopatogênicos que, na maioria das vezes, são revertidos somente por meio de intervenções terapêuticas podem, por outro lado, ocorrer durante a prática de exercício físico de maneira transitória ou reversível *per se* (Arazi et al., 2018; Testa, 2020).

Na literatura, sabe-se que o exercício promove elevação na atividade simpática, reduzindo o tônus parassimpático. Tal estímulo induz efeito cronotrópico e inotrópico cardíaco positivo contribuindo para redistribuição do fluxo sanguíneo para a musculatura esquelética ativa (Sales et al., 2019). Nesse caso, ao término do esforço físico, ocorre recuperação com tendência clara à homeostase.

Além disso, é amplamente conhecido que o exercício causa microlesões por meio de ruptura miofibrilar ultraestrutural, associada a efluxo sistêmico de enzimas musculares tal como a creatina quinase (CK), que são primordiais para a adaptação do organismo ao esforço físico (Mello et al., 2016). Essas microlesões produzem resposta inflamatória clássica (Chazaud, 2016; Cheng et al., 2020), podendo ocorrer também nos equinos (Liburt et al., 2010; Lee et al., 2019).

Simultaneamente, há a sinalização do sarcolema devido a estímulos induzidos pelas microlesões, promovendo liberação de prostaglandinas, prostaciclina, leucotrienos

e tromboxanos, mediadores derivados no metabolismo do ácido araquidônico. O ácido araquidônico está localizado na camada fosfolipídica da membrana celular, e seu metabolismo regula atividade quimiotática, aumentando a permeabilidade vascular, promovendo vasodilatação, ocasionando sinais clássicos do processo inflamatório tecidual (Markworth et al., 2018).

Dados obtidos em estudos recentes demonstraram que o exercício agudo proporciona modificação transitória na contagem de neutrófilos, monócitos e linfócitos, além de auxiliar como modulador do sistema imunológico devido às alterações dos linfócitos (Haspel et al., 2017; Alawna et al., 2020; Da Silveira et al., 2021). Ademais, são perceptíveis os aumentos nas concentrações de cortisol e na expressão gênica muscular de citocinas inflamatórias (Ferraz et al., 2010; Lee et al., 2019; Trindade et al., 2020), seguidos de aumento nas citocinas anti-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-1ra, IL-8, IL-15) presentes no sangue e na musculatura esquelética estriada de equinos (Nieman et al., 2001; Mooren et al., 2002; Liburt et al., 2010; Witkowska-Piłaszewicz et al., 2019).

A reparação do tecido muscular esquelético após microlesão, induzida pelo exercício é complexa, envolvendo interações entre células inflamatórias, células satélites, fibroblastos e células endoteliais, e uma série de mediadores inflamatórios secretados por essas células. Importante, a inflamação caracterizada pela resposta celular da musculatura lesionada é obrigatória para a reparação tecidual adequada, ocorrendo, especificamente no músculo esquelético, regeneração funcional completa (Chazaud, 2016; Cheng et al., 2020).

Tal inflamação da musculatura esquelética, induzida pelo exercício, engloba fases sequenciais, incluindo: i) preparação da resposta inflamatória, caracterizada por infiltração de células imunes no local das microlesões musculares e liberação de

mediadores pró-inflamatórios; ii) a resolução da inflamação, caracterizada por mudança de ambiente pró-inflamatório para estabelecimento da ação anti-inflamatória; iii) reparo/regeneração tecidual, incluindo angiogênese, matriz remodelação e retorno à homeostase. Quase todos os tipos de células imunes participam desse processo inflamatório, ressaltando-se que macrófagos são fundamentais em todas as fases e participam tanto da etapa inicial da inflamação quanto da etapa de reparação muscular (Minari et al., 2015; Chazaud, 2016; Zuntini, 2019).

No controle e mitigação da inflamação em cavalos utilizados no esporte, anti-inflamatórios são amplamente empregados, especialmente nas enfermidades músculo-esqueléticas, sendo a dexametasona um corticosteroide de uso frequente, por sua potente ação anti-inflamatória e capacidade de restaurar mais rapidamente a função locomotora e o desempenho atlético. (Mizen et al., 2017; McClure et al., 2021). Na espécie equina, inúmeros estudos, com objetivos distintos, foram realizados utilizando a dexametasona (Authie et al., 2010; Soma et al., 2012; Mizén et al., 2017; Haspel et al., 2018; Ekstrand et al., 2019; Knych et al., 2020; McClure et al., 2021; Pinnell et al., 2023). Um dos trabalhos verificou se a biodisponibilidade plasmática da dexametasona poderia ser modificada pelo exercício moderado e prolongado. Os autores demonstraram que, independentemente da via de aplicação, i.v. ou i.m., nos animais submetidos a sessão de exercício, existiu incremento da meia-vida da dexametasona devido a provável redução do clearance hepático, quando comparado a equinos em repouso (Authie et al., 2010).

McClure et al. (2021), por sua vez, estudaram equinos das raças puro sangue inglês (PSI) e quarto de milha (QM), que receberam 20 mg de fosfato sódico de dexametasona por via intravenosa. Os pesquisadores relataram que não houve diferenças estatisticamente significativas nas concentrações sanguíneas de dexametasona entre 48 e 72 horas após a aplicação do fármaco, independentemente da idade, sexo, raça ou número

de administrações. Num experimento concomitante, afirmaram que a dexametasona poderia provocar efeitos de contaminações cruzadas entre equinos alojados no mesmo ambiente.

Outro estudo em equinos descreveu que a utilização da dexametasona por diferentes vias de administração parenterais, oral ou intra-articular promoveu distribuição sistêmica semelhante (Soma et al., 2012). Além disso, outras pesquisas que focaram a espécie informaram que a dexametasona induziu elevações na lactatemia (Mizen et al., 2017) ou na glicemia (Ekstrand et al., 2019).

Portanto, esses biomarcadores do metabolismo de carboidratos podem ser utilizados para avaliar a ação da dexametasona, sendo que a glicemia elevada, em particular, induzida pela ação desse medicamento, estaria relacionada ao possível efeito antirreumático na espécie humana (Ekstrand et al., 2019). Ainda, estes últimos autores sugeriram que o controle da glicemia seria fator relevante para o controle antidopagem da dexametasona em cavalos atletas.

Por fim, ressalta-se o estudo de Knych et al. (2020), no qual os equinos tratados com dexametasona pelas vias intravenosa ou oral obtiveram inibição do quadro inflamatório induzido *ex vivo*. Quantificaram-se biomarcadores inflamatórios tais como prostaglandina E2 (PGE2), prostaglandina alfa F2 (PGF2 α), leucotrieno B4 (LTB4), entre outros, tendo o efeito perdurado por sete dias.

Devido ao contexto apresentado, a hipótese desta pesquisa é que uma única sessão de exercício agudo, realizada com carga externa próxima a 90% da frequência cardíaca máxima (90% FC máx), é capaz de induzir uma resposta inflamatória clássica e transitória. Essa resposta, por sua vez, pode ser controlada pela administração parenteral e preemptiva de anti-inflamatórios esteroidais (AIEs), fármacos que atuam na inibição da fosfolipase A2 e bloqueiam a degradação do ácido araquidônico. Essa enzima participa

da primeira etapa da via enzimática que converte o ácido araquidônico em eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos e prostaciclina) e induz inflamação na espécie equina (Knych, 2017; Mizen et al., 2017, Ekstrand et al., 2019; Carvalho et al., 2024).

As pesquisas envolvendo a indução da inflamação em equinos normalmente utilizaram alguns protocolos que provocam algia intensa, tais como implantes de carragenina (Hunter et al., 1999), hemartrose iatrogênica (Judy e Galuppo, 2005) e aplicação de adjuvante de Freund (Pozzobon et al., 2008). O modelo mais comum para essa indução é a administração intra-articular de lipopolissacarídeo (LPS), que induz sinovite aguda, moderada e transitória, sendo que este protocolo é frequentemente utilizado para avaliar tanto a eficácia de anti-inflamatórios não esteroidais (Van de Water et al., 2021; Carvalho et al., 2024), como a analgesia mediada por opioides (Carregaro et al., 2014).

A partir do exposto, nota-se que a utilização de modelo experimental minimamente invasivo para induzir processo inflamatório moderado e possível de ser controlado por meio da utilização de agentes anti-inflamatórios na espécie equina é necessária. Dessa maneira, justifica-se o uso de exercício físico intenso e agudo para induzir inflamação (Pedersen e Hoffman-Goetz, 2000; Lavin et al., 2020; Methenitis et al., 2021) e para, em seguida, tentar controlá-la com a administração parenteral de anti-inflamatórios.

Contudo, outro aspecto a ser considerado é a experimentação clínica com animais, que provoca cada vez mais preocupações públicas, sociais e até mesmo políticas. Diante dessa realidade, por vezes controversa, provocada pelo emprego de animais em pesquisa, o protocolo experimental aqui proposto, de utilização do exercício físico para indução de resposta inflamatória (Liburt et al., 2010; Gondin et al., 2013; Cheng et al., 2020), está de acordo com o conceito 3Rs (substituição, redução e refinamento). Ademais,

poderá ser utilizado pela comunidade científica que estuda efeitos de moléculas antigas ou novas de anti-inflamatórios, não somente em equinos, mas também em outras espécies de interesse, como cães e até mesmo a espécie humana.

Finalmente, destacam-se as recentes normativas publicadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Segundo a Resolução Normativa N. 25, de 29 de setembro de 2015, os pesquisadores devem estar cientes de que a dor e o sofrimento dos animais devem ser mitigados ou evitados. A resolução informa ainda que esse aspecto relacionado ao bem-estar é tão importante quanto atingir objetivos científicos e estimula o uso de ensaios alternativos em relação ao uso de animais em experimentação.

CONCLUSÃO

Conclui-se que no presente protocolo de exercício e a aplicação previa de glicocorticoide não modificou os valores do PAF em equinos.

REFERÊNCIAS

ASSUNÇÃO, P. Acute-phase protein profile in horses subjected to different exercise protocols. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 83, n. 4, p. 272-278, 2019.

CONCEA. Resolução Normativa nº 25, de 29 de setembro de 2015. Baixa o Capítulo "Introdução Geral" do Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais para Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal - CONCEA. Brasília: D.O.U. de 02/10/2015, seção I, p. 4. 2015.

CORDERO, M.; BRORSEN, B. W.; MCFARLANE, D. Circadian and circannual rhythms of cortisol, ACTH, and α -melanocyte-stimulating hormone in healthy horses. *Domestic animal endocrinology*, v. 43, n. 4, p. 317-324, 2012.

CYWIŃSKA, A. et al. Exercise-induced inflammation in horses: The role of cytokines and platelet-activating factor. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 33, n. 10, p. 813-819, 2013.

DETOPOULOU, P.; NOMIKOS, T.; FRAGOPOULOU, E.; CHRYSOHOOU, C.; ANTONOPOULOU, S. Platelet Activating Factor in Heart Failure: Potential Role in Disease Progression and Novel Target for Therapy. *Curr. Hear. Fail. Rep.* 2013, 10, 122–129.

DE CARVALHO, Jonatan CS et al. The interplay among glucocorticoid therapy, platelet-activating factor and endocannabinoid release influences the inflammatory response to COVID-19. *Viruses*, v. 15, n. 2, p. 573, 2023.

DE SOLIS, C.N. Cardiovascular response to exercise and training, exercise testing in horses. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, v. 35, n. 1, p. 159-173, 2019.

GOLDSTEIN BM, GABEL RA, HUGGINS FJ, CERVONI P, CRANDALL DL. Effect of platelet activating factor (PAF) on blood flow distribution in the spontaneously hypertensive rat. *Life Sci*. 1984; 35:1373–78.

GONDIN, M.R. et al. Acute phase responses of different positions of high-goal (elite) polo ponies. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 33, n. 11, p. 956-961, 2013.

HANDA RK, STRANDHOY JW, BUCKALEW VM JR. Vasorelaxant effect of C16-PAF and C18-PAF on renal blood flow and systemic blood pressure in the anesthetized rat. *Life Sci*. 1991; 49(10):747–52.

HAYNES A, LINDEN MD, ROBEY E, WATTS GF, BARRETT H, NAYLOR LH, et al. Impact of commonly prescribed exercise interventions on platelet activation in physically inactive and overweight men. *Physiol Rep*. 2016; 4:e12951.

KELESIDIS, T.; PAPAKONSTANTINO, V.; DETOPOULOU, P.; FRAGOPOULOU, E.; CHINI, M.; LAZANAS, M.C.; ANTONOPOULOU, S. The Role of Platelet-Activating Factor in Chronic Inflammation, Immune Activation, and Comorbidities Associated with HIV Infection. *Aids Rev*. 2015, 17, 191–201.

KNYCH, H. K., WEINER, D., ARTHUR, R. M., BADEN, R., MCKEMIE, D. S., KASS, P. H. Serum concentrations, pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling, and effects of dexamethasone on inflammatory mediators following intravenous and oral administration to exercised horses. *Drug Testing and Analysis*, v.12, n.8, p.1087-1101, 2020.

LAMPRECHT, E. D.; WILLIAMS, C. A. Biomarkers of antioxidant status, inflammation, and cartilage metabolism are affected by acute intense exercise but not superoxide dismutase supplementation in horses. *Oxidative medicine and cellular longevity*, v. 2012, 2012.

LEE, H. G., CHOI, J. Y., PARK, J. W., PARK, T. S., SONG, K. D., SHIN, D., CHO, B. W. Effects of exercise on myokine gene expression in horse skeletal muscles. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, v. 32, n. 3, p. 350, 2019.

LÉGUILLETTE, R. et al. Contribuição relativa da energia aeróbica e anaeróbica na resistência física de corrida e em cavalos de corrida Puro-Sangue durante exercícios extenuantes. *Fisiologia Comparativa do Exercício*, v. 15, n. 5, p. 299-306, 2019.

LOPES-MARTINS R, CATELLI M, ARAÚJO C, ESTADO V, CORDEIRO R, TIBIRIÇÁ E. Pharmacological evidence of a role for platelet activating factor as a modulator of vasomotor tone and blood pressure. *Eur J Pharmacol.* 1996; 308(3):287–94.

LORDAN, R.; TSOUPRAS, A.; ZABETAKIS, I.; DEMOPOULOS, C.A. Forty Years Since the Structural Elucidation of Platelet-Activating Factor (PAF): Historical, Current, and Future Research Perspectives. *Molecules* 2019, 24, 4414.

MASUGI F, OGIHARA T, SAEKI S, OTSUKA A, KUMAHARA Y. Role of acetyl glyceryl ether phosphorylcholine in blood pressure regulation in rats. *Hypertension* 1985; 7:741–46.

MCEVER, R. P.; CUMMINGS, R. D. Role of platelet-activating factor in inflammation. *Annual Review of Immunology*, v. 29, p. 585-612, 2011.

MICHAEL S, GRAHAM KS, DAVIS GM Oam. Cardiac Autonomic Responses during Exercise and Post-exercise Recovery Using Heart Rate Variability and Systolic Time Intervals-A Review. *Front Physiol.* 2017; 8:301.

MONTRUCCHIO G, ALLOATTI G, CAMUSSI G. Role of platelet-activating factor in cardiovascular pathophysiology. *Physiol Rev.* 2000; 80:1669–99.

MOORE, J. N.; BARTON, M. H. Endotoxemia and the role of platelet-activating factor in horses. *Equine Veterinary Journal*, v. 25, n. 5, p. 379-385, 1993.

NAGOOR MEERAN, M.F.; SHARMA, C.; GOYAL, S.N.; KUMAR, S.; OJHA, S. CB2 Receptor-Selective Agonists as Candidates for Targeting Infection, Inflammation, and Immunity in SARS-CoV-2 Infections. *Drug Dev. Res.* 2021, 82, 7–11.

PRADO, João Paulo et al. Investigation of the involvement of platelet-activating factor in the control of hypertension by aerobic training. A randomized controlled trial. *Biology of Sport*, v. 41, n. 2, p. 163-174, 2023

SPARLING, P. B. et al. Exercise activates the endocannabinoid system. *Neuroreport*, v. 14, n. 17, p. 2209-2211, 2003.

SORGI, C. A., PETI, A. P. F., PETTA, T., MEIRELLES, A. F. G., FONTANARI, C., MORAES, L. A. B. D., FACCIOLI, L. H. Comprehensive high-resolution multiple-reaction monitoring mass spectrometry for targeted eicosanoid assays. *Scientific Data*, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2018.

TE MOLLER, N. C.R.; VAN WEEREN, P. R. How exercise influences equine joint homeostasis. *The Veterinary Journal*, v. 222, p. 60-67, 2017.

THEOHARIDES, T.C.; ANTONOPOULOU, S.; DEMOPOULOS, C.A. Coronavirus 2019, Microthromboses, and Platelet Activating Factor. *Clin. Ther.* 2020, 42, 1850–1852.

VAN DOORSLAER DE TEN RYEN, Sophie et al. Regulation of the endocannabinoid system by endurance and resistance exercise in hypoxia in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, v. 134, n. 3, p. 569-580, 2023.

VEMULAPALLI S, CHIU PJ, BARNETT A. Cardiovascular and renal action of platelet-activating factor in anesthetized dogs. *Hypertension* 1984; 6:489–93.

WATKINS, Bruce A. Endocannabinoids, exercise, pain, and a path to health with aging.
Molecular aspects of medicine, v. 64, p. 68-78, 2018.