

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**U LISBOA**

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



Evaluation of two equine asthma staging methods against lung function tests

Sara Alves dos Santos

ORIENTADOR(A):  
Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia de  
Andrade Pimenta Tilley

2025

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



Evaluation of two equine asthma staging methods against lung function tests

Sara Alves dos Santos

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutor José Paulo Pacheco de Sales Luís

VOGAIS:

Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia de  
Andrade Pimenta Tilley

Doutor Luís Ressano Garcia Pardon Lamas

ORIENTADOR(A):

Doutora Paula Alexandra Botelho Garcia de  
Andrade Pimenta Tilley

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Sara Alves dos Santos

Título da Tese ou Dissertação: Evaluation of two equine asthma staging methods against lung function tests

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2025

Designação do curso de

Mestrado ou de

Doutoramento:

Mestrado integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

Clínica

Produção Animal e Segurança Alimentar

Morfologia e Função

Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de  6 meses,  12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, \_\_\_\_ de \_\_\_\_ de 20\_\_

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura: Sara Alves dos Santos Paula Tilley

## **Agradecimentos**

Chegar ao fim deste percurso é, para mim, motivo de enorme orgulho. Com todas as adversidades com que me deparei não só durante o curso mas especialmente antes do mesmo se iniciar. Não fiz a melhor escolha e perdi o rumo mas fico feliz por o ter encontrado a tempo. Foram 6 anos de esforço, dedicação, adaptação e aprendizagem. Descobri-me enquanto pessoa mas acima de tudo conheci-me como futura clínica.

Durante este percurso não podia deixar de agradecer ao meu noivo, Rodrigo, o meu porto seguro e maior apoio em todos os sentidos. A tua presença constante, a tua paciência infinita e o teu incentivo diário foram fundamentais para eu acreditar em mim e seguir em frente, mesmo quando as dúvidas surgiam. Agradeço-te por nunca deixares que eu perdesse o foco, por me dares coragem para me desafiar e continuar de cabeça erguida. Obrigada por aceitares as minhas escolhas mesmo que exijam cedências e compromissos da nossa parte. Mal posso esperar pelo início desta nova etapa contigo a meu lado.

À minha mãe, que é um exemplo de perseverança, que sempre me ensinou que desistir não é opção. Tudo que tiver que ser será, e assim foi. Obrigada por nunca aceitares que eu baixasse os braços, por seres o meu grande pilar e por estares ao meu lado sempre com uma força silenciosa mas inabalável. O teu amor e a tua confiança em mim é aquilo que me faz levantar mesmo nos dias mais cinzentos.

Ao meu pai, com gratidão e carinho, pelo apoio durante o meu percurso académico, por me ter dado uma infância feliz, e por me ter permitido conhecer este meu amor pelos cavalos mais de perto.

À minha orientadora, Paula Tilley, o meu sincero agradecimento pela orientação generosa, acreditar neste projeto e por o fazer acontecer.

À Marta que me ajudou com a análise estatística, tornou todo este processo mais simples.

À Eqvet, um obrigada pela oportunidade de abrir os horizontes, de acompanhar os casos das áreas mais variadas, de seguir em frente com uma nova perspetiva e motivação.

A todos os que fizeram parte do meu percurso na veterinária — colegas, professores, mentores e amigos — um obrigada do fundo do coração. A cada conversa, cada partilha e cada momento, deixo aqui a minha gratidão. E, por fim, à minha família — de sangue e de coração — obrigada por nunca me deixarem esquecer quem sou e por serem sempre casa.

## Resumo

### **Avaliação de dois métodos de estadiamento da asma equina em comparação com testes de função pulmonar**

A asma equina é uma das doenças respiratórias crônicas não infecciosas mais prevalentes, representando um desafio para o diagnóstico e estadiamento clínico, tanto em contexto de campo como em ambiente hospitalar. Este estudo teve como objetivo avaliar possíveis associações e/ou correlações entre dois métodos distintos de classificação clínica — o Índice de Sinais Respiratórios Avaliado pelo Proprietário (HOARSI) e o Método de Classificação de Tilley et al., 2012 (TILLEY) — e métodos de referência, como a citologia do Lavado Broncoalveolar (BALF) e parâmetros de função pulmonar. Estes incluíram a pressão parcial arterial de oxigênio ( $PaO_2$ ), a diferença de pressão pleural ( $\Delta Ppl$ ) e a concentração de histamina, medida por pletismografia com broncoprovocação. Foram observadas fortes correlações entre a frequência da tosse e o HOARSI ( $\gamma = 0.935$ ), a percentagem de neutrófilos no BALF e o HOARSI ( $\gamma = 0.924$ ), bem como entre a concentração de histamina e o TILLEY ( $\gamma = -0.927$ ). A  $\Delta Ppl$  também apresentou associações significativas com o HOARSI ( $r = 0.677$ ) e o TILLEY ( $r = 0.631$ ). Os resultados demonstram a fiabilidade destes métodos para avaliar a gravidade da doença. Em conjunto, HOARSI e TILLEY permitem um diagnóstico precoce, monitorização terapêutica e bem-estar dos cavalos afetados.

**Palavras-chave:** asma equina; estadiamento; HOARSI; TILLEY; testes de função pulmonar;

## **Abstract**

### **Evaluation of two equine asthma staging methods against lung function tests**

Equine asthma is one of the most prevalent non-infectious chronic respiratory diseases, posing considerable challenges for diagnosis and staging, both in field conditions and clinical settings. This study aimed to evaluate potential associations and/or correlations between two distinct clinical staging methods—the Horse Owner Assessed Respiratory Signs Index (HOARSI) and the Tilley et al., 2012 Staging Method (TILLEY)—and gold standard diagnostic tools such as Bronchoalveolar Lavage Fluid (BALF) cytology and key lung function parameters. These included arterial partial pressure of oxygen ( $\text{PaO}_2$ ), difference in pleural pressure ( $\Delta\text{Ppl}$ ), and histamine concentration measured via plethysmography with bronchoprovocation. Strong correlations were observed between cough frequency and HOARSI ( $\gamma = 0.935$ ), BALF neutrophil percentage and HOARSI ( $\gamma = 0.924$ ), as well as histamine concentration and TILLEY ( $\gamma = -0.927$ ). Additionally,  $\Delta\text{Ppl}$  showed significant associations with both HOARSI ( $r = 0.677$ ) and TILLEY ( $r = 0.631$ ). These results support the reliability of both methods for assessing disease severity in horses. The study highlights the complementary roles of HOARSI and TILLEY in equine asthma: HOARSI as a practical and efficient screening tool, especially in ambulatory settings, and TILLEY as a more detailed in-hospital staging method. Combined, they enhance early diagnosis, staging accuracy, treatment monitoring, and overall welfare of affected horses.

**Keywords:** equine asthma; staging; HOARSI; TILLEY; lung function tests;

## Resumo Alargado

### Avaliação de dois métodos de estadiamento da asma equina em comparação com testes de função pulmonar

A asma equina (AE) é uma das principais doenças respiratórias crônicas em cavalos que afeta a qualidade de vida, o desempenho desportivo e a longevidade atlética. Esta condição, não infecciosa e de natureza inflamatória, pode levar a quadros clínicos de crise ou latentes, ligeiros ou graves, marcados por dificuldade respiratória significativa, tosse persistente e intolerância ao exercício. A complexidade da AE exige, por isso, métodos diagnósticos fiáveis que permitam não apenas identificar a presença de patologia, mas também estadeá-la com rigor, de forma a aplicar o tratamento mais apropriado e permitir a monitorização da resposta ao mesmo.

A literatura atual documenta diversos sistemas de pontuação clínica para AE, variando entre escalas simples, baseadas no esforço respiratório (Gerber et al. 2000), tosse e auscultação (Khol-Parisini et al. 2007) ou então abordagens mais complexas que incorporam procedimentos diagnósticos como a radiologia e análise citológica (Tilley, J.P. Sales Luis, et al. 2012). Por outro lado, existem métodos que se focam não só no exame clínico mas também nos sinais clínicos identificados pelo proprietário (Hotchkiss et al. 2006; Ramseyer et al. 2007; Gerber et al. 2011). Contudo, poucos estudos exploraram, com uma base estatística robusta, a correlação entre estes sistemas clínicos e os métodos laboratoriais e funcionais considerados de referência.

O presente estudo surge com o objetivo de procurar correlações estatísticas entre dois métodos de estadiamento distintos – o *Horse Owner Assessed Respiratory Signs Index* (HOARSI), baseado em sinais clínicos relatados pelos proprietários, e o método TILLEY (Tilley et al., 2012), sustentado por exames clínicos e complementares realizados em contexto hospitalar – e os testes considerados *gold standard* para a AE, nomeadamente a citologia da lavagem broncoalveolar (LBA) e alguns parâmetros pulmonares como a pressão arterial parcial de oxigénio ( $PaO_2$ ), a diferença de pressão pleural ( $\Delta Ppl$ ), e a concentração de histamina (medida por pletismografia com broncoprovocação).

Foram avaliados 38 cavalos, dos quais 18 apresentavam sinais compatíveis com AE e 20 eram clinicamente saudáveis, constituindo o grupo controlo. Todos os animais foram submetidos, no hospital veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, a uma sequência padronizada de exames. O HOARSI foi aplicado através de um questionário preenchido com a ajuda dos proprietários, enquanto o método TILLEY integrou o exame clínico detalhado, radiografias torácicas, endoscopia respiratória, pletismografia com broncoprovocação, gasometria arterial e citologia do LBA. A sequência dos exames foi cuidadosamente estabelecida de forma a não interferir nos resultados.

Para avaliar a normalidade dos dados foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk. Para variáveis ordinais com empates frequentes, foi utilizado o coeficiente gamma de Goodman e Kruskal, enquanto a estatística de Somers' Delta permitiu avaliar relações de dependência entre variáveis. As correlações entre variáveis contínuas e ordinais foram estimadas através do coeficiente de Spearman. A interpretação seguiu a escala proposta por Rea e Parker (2014), valores entre 0.00 e 0.10 indicam uma associação negligenciável, entre 0.10-0.20 fraca, entre 0.20-0.40 moderada, entre 0.40-0.60 relativamente forte, entre 0.60-0.80 forte, e entre 0.80 -1.00 muito forte. Para comparação entre os grupos controlo e doente, recorreu-se ao teste t para amostras independentes.

Verificou-se uma associação muito forte e positiva entre o método HOARSI e o parâmetro “tosse” do score clínico TILLEY ( $\gamma = 0.935$ ). O score TILLEY apresentou, por sua vez, uma associação muito forte com o exame físico ( $\gamma = 0.992$ ), uma associação relativamente forte com a frequência da tosse ( $\gamma = 0.660$ ) e com o tempo de recuperação pós-exercício ( $\gamma = 0.681$ ), parâmetros estes avaliados no HOARSI.

O HOARSI demonstrou ainda associações muito fortes com os scores de endoscopia ( $\gamma = 0.857$ ) e de radiografia torácica ( $\gamma = 0.861$ ) do método TILLEY.

No que respeita aos parâmetros gold standard, ambos os métodos apresentaram uma associação muito forte com a concentração de histamina (HOARSI:  $\gamma = -0.802$ ; TILLEY:  $\gamma = -0.927$ ), uma associação forte com a diferença de pressão pleural,  $\Delta Ppl$  (HOARSI:  $\gamma = 0.772$ ; TILLEY:  $\gamma = 0.713$ ), e uma associação relativamente forte com a pressão parcial de oxigénio,  $PaO_2$  (HOARSI:  $\gamma = -0.597$ ; TILLEY:  $\gamma = -0.562$ ). O HOARSI apresentou também uma associação muito forte com a percentagem de neutrófilos no LBA ( $\gamma = 0.924$ ).

Entre os próprios parâmetros gold standard identificou-se uma correlação de Spearman forte entre  $\Delta Ppl$  e  $PaO_2$  ( $r = -0.664$ ), uma correlação relativamente forte entre  $\Delta Ppl$  e a concentração de histamina ( $r = -0.504$ ), bem como uma correlação relativamente forte entre  $\Delta Ppl$  e a percentagem de neutrófilos no LBA ( $r = 0.597$ ). A  $PaO_2$  revelou ainda uma correlação relativamente forte com a concentração de histamina ( $r = 0.469$ ).

Os resultados obtidos demonstram a existência de correlações estatisticamente significativas entre ambos os métodos e todos os parâmetros analisados, reforçando a sua relevância diagnóstica e o seu potencial de aplicação clínica.

A  $\Delta Ppl$  revelou uma correlação forte com os scores finais de HOARSI e TILLEY sustentando a utilidade destes métodos na avaliação da obstrução brônquica. Robinson et al. 2001; Couëttil et al. 2016 identificam que valores elevados de  $\Delta Ppl$  em casos mais graves de asma equina surgem frequentemente acompanhados de remodelação estrutural das vias respiratórias. A  $PaO_2$  apresentou uma correlação negativa relativamente forte com ambos os métodos indicando que o agravamento da obstrução brônquica está associado à diminuição

da oxigenação, fenómeno agravado pela disfunção na relação ventilação-perfusão (Couëttil et al. 2016).

A concentração de histamina revelou uma associação muito forte com o score TILLEY e também com HOARSI. Estes resultados sugerem que ambos os métodos são eficazes na identificação da hiperreactividade brônquica, uma característica central da fisiopatologia da asma equina (Mazan and Hoffman 2003).

Relativamente à citologia do LBA, verificou-se uma associação muito forte entre a percentagem de neutrófilos e o score HOARSI, reforçando o valor deste método como alternativa menos invasiva na avaliação da inflamação neutrofílica tornando-se num substituto viável em contextos em que a realização do LBA não seja possível (Mazan and Hoffman 2003).

A discrepância na perceção de sinais clínicos entre profissionais e proprietários parece estar relacionada com estudos sobre o comportamento visual humano, nomeadamente no fenómeno de *multiple identity tracking* (MIT), que aponta para a dificuldade em acompanhar visualmente movimentos simultâneos com identidade distinta (Hyönä et al. 2019)— como é o caso do movimento das narinas em conjugação com o movimento da cabeça do animal. Em contraste, o movimento abdominal tende a ser mais isolado e, portanto, é mais fácil de identificar pelos proprietários.

A propósito desta limitação a inteligência artificial (IA) torna-se uma válida ferramenta de apoio ao diagnóstico. Gomes, Tilley, et al. 2025 com base em vídeos de cavalos, analisando exclusivamente o movimento das narinas, atingiu uma taxa de acerto de 89% na distinção entre animais asmáticos e saudáveis. Este resultado abre caminho à criação de modelos diagnósticos multimodais baseados em IA, que permitam integrar diferentes tipos de dados clínicos, visuais e funcionais, promovendo métodos de triagem menos invasivos e mais acessíveis.

As principais limitações do estudo são o número reduzido de animais incluídos e o facto de a investigação ter sido conduzida num único centro hospitalar. Ainda assim, os dados obtidos validam a fiabilidade dos métodos HOARSI e TILLEY na avaliação da asma equina, evidenciando o valor de ambos, tanto de forma isolada como complementar, no diagnóstico, estadiamento e monitorização da doença.

Este estudo comprova a fiabilidade e utilidade clínica dos métodos HOARSI e TILLEY para estadiamento da asma equina, apresentando ambos fortes correlações com parâmetros de referência consagrados na literatura científica.

O HOARSI destaca-se como uma ferramenta prática, económica e não invasiva, ideal para uso a campo e em contexto longitudinal. Já o TILLEY, mais exigente do ponto de vista técnico, revela-se essencial para diagnóstico hospitalar rigoroso e para estudos de investigação clínica.

A utilização combinada de ambos os métodos permite uma abordagem mais abrangente e personalizada à gestão da AE, promovendo diagnósticos mais precoces, tratamentos mais dirigidos e melhor acompanhamento da resposta terapêutica. Por conseguinte, o presente estudo oferece um contributo sólido para a prática clínica equina, bem como uma base robusta para futuras investigações na área da medicina respiratória veterinária.

<b>Índice</b>	
<b>Agradecimentos</b> .....	iii
<b>Resumo</b> .....	iv
<b>Abstract</b> .....	v
<b>Resumo Alargado</b> .....	vi
<b>Lista de Figuras</b> .....	xi
<b>Lista de Siglas</b> .....	xi
<b>1. Relatório de estágio</b> .....	1
<b>2. Revisão bibliográfica</b> .....	4
<b>2.1 O que é a asma?</b> .....	4
<b>2.1.1 Etiologia</b> .....	5
<b>2.1.2 Paralelo com a asma humana</b> .....	6
<b>2.1.3 Fisiopatologia</b> .....	7
<b>2.1.4 Impacto económico</b> .....	8
<b>2.1.5 Diagnósticos diferenciais</b> .....	8
<b>2.2 Métodos de Diagnóstico da Asma Equina</b> .....	9
<b>2.2.1 História clínica</b> .....	9
<b>2.2.2 Radiografias torácicas</b> .....	10
<b>2.2.3 Endoscopia e BALF</b> .....	10
<b>2.2.4 Testes de função pulmonar</b> .....	12
<b>2.3 Asma Equina e a Utilização de Inteligência Artificial para o Estadiamento e Controlo por Tutores</b> .....	15
<b>2.4 Métodos de estadiamento</b> .....	17
<b>2.4.1 HOARSI</b> .....	17
<b>2.4.2 Tilley</b> .....	18
<b>2.4.3 Outros métodos de estadiamento</b> .....	18
<b>2.5 Tratamento da Asma Equina: Abordagens Integradas para Maneio e Controlo</b> ...	20
<b>2.5.1 Modificações Ambientais</b> .....	20
<b>2.5.2 Terapias Farmacológicas</b> .....	21
<b>2.5.3 Considerações Adicionais no Tratamento</b> .....	22
<b>2.5.4 Perspetivas Futuras e Terapias Avançadas</b> .....	22
<b>2.6 Bibliografia</b> .....	23
<b>3. Artigo científico</b> .....	28

## Lista de Figuras

Figura 1: Casuística de estágio.....1

## Lista de Siglas

IAD: *inflammation airway disease*

MMA: *mild to moderate asthma*

RAO: *recurrent airway obstruction*

SEA: *severe equine asthma*

BALF: *bronchoalveolar lavage fluid*

IgE: imunoglobulina E

Th17: Células T auxiliaries 17

Th2: Células T auxiliaries 2

IL-5: Interleucina 5

IL-13: Interleucina 13

IL-17: Interleucina 17

IL-8: Interleucina 8

EqMUC5AC

NANC: *nonadrenergic-noncholinergic*

ABG: *arterial blood gas*

PaO<sub>2</sub>: pressão parcial de oxigênio

PaCO<sub>2</sub>: pressão parcial de dióxido de carbono

NETs: *neutrophil extracellular traps*

IA: Inteligência artificial

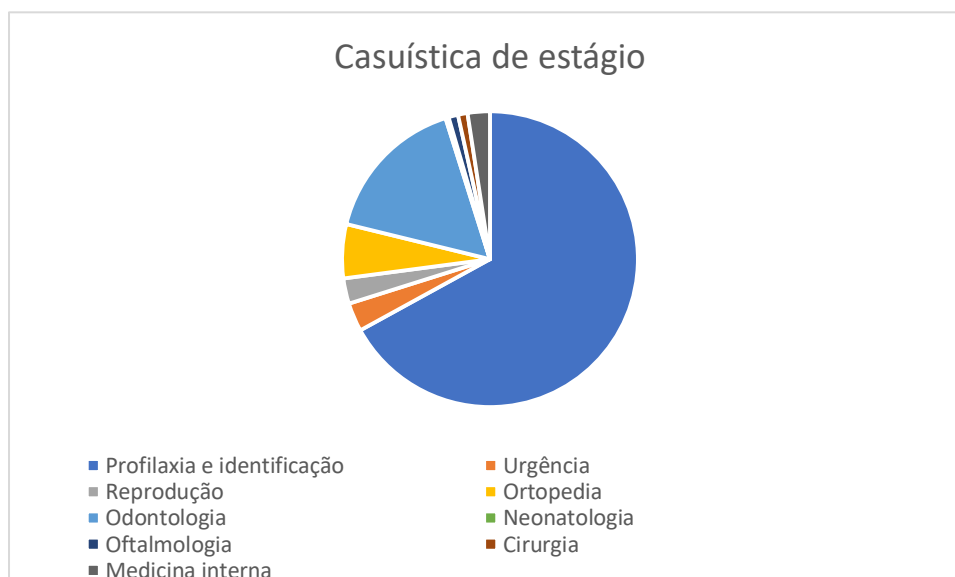
HOARSI: *Horse Owner Assessed Respiratory Signs Index*

SEAS: Severe equine asthma syndrome

TNF- $\alpha$ : *tumor necrosis factor alfa*

## 1. Relatório de estágio

O estágio curricular foi realizado com a Dra. Cátia Candeias Mousinho e a sua colega Dra. Marta Azinhais entre o dia 9 de Setembro e 9 de Dezembro de 2024. As atividades foram sempre realizadas em regime ambulatorio e durante este período foram seguidos 288 animais, entre eles equinos e asininos. Foram efetuados procedimentos nas seguintes áreas: profilaxia, ortopedia, oftalmologia, urgência, odontologia, cirurgia, reprodução, identificação de animais e medicina interna.



**Figura 1: Casuística de estágio**

Relativamente à casuística, observada em mais detalhe no gráfico x, podemos concluir que a profilaxia e a identificação de animais consistiram nas áreas com mais animais intervencionados. Este facto acabou por ser possível uma vez que efetuámos estes procedimentos numa coudelaria com elevado número de animais além dos casos que apareceram no campo.

Foram vacinados contra gripe e tétano 169 animais, contra herpesvírus 3 animais, e por fim, contrastando bastante com anos anteriores, 45 animais contra febre do nilo ocidental. Neste processo de vacinação foi ainda possível acompanhar o processo de requerimento de autorizações para vacinar contra febre do nilo e assim tomar conhecimento da documentação necessária.

Foram também identificados cerca de 58 animais cujo processo consistia na colocação de microchip, elaboração de um resenho e colheita de sangue e crinas caso os animais se considerassem de linhagem pura. Neste procedimento foi possível familiarizar-me com a correta denominação a utilizar aquando do preenchimento do resenho, assim como, com as várias pelagens, localizações de apontamentos tais como rodopios e espigas. É de notar que vários animais foram alvo destes procedimentos em simultâneo.

Outra das áreas que teve bastante expressão foi a odontologia, não só efetuámos cerca de 47 dentisterias de rotina onde foi possível identificar e corrigir pontas dentárias, boca em onda e ganchos como também efetuámos, com auxílio do Dr. Salvador Falcão, especialista na área, duas extrações dentárias (dentes 301 e 302). Tivemos também um caso clínico de sinusite no entanto não nos foi possível descobrir a origem da mesma por falta de recursos financeiros do proprietário.

Ao longo destes meses foi também possível acompanhar alguns casos de ortopedia, realizaram-se exames estáticos e dinâmicos para deteção e classificação de claudicações, incluindo a palpação de estruturas anatómicas, testes de flexão, testes de pinça de casco, anestésias regionais e posterior realização e avaliação de exames complementares de diagnóstico como radiografias e ecografias. Tive oportunidade de diagnosticar duas lesões de tendão e numa delas acompanhar o tratamento com terapias de reabilitação, tais como laser. Diagnosticámos uma subluxação do boleto, identificámos osteófitos ao raio x e acompanhámos dois casos de laminite e dois casos de abscesso de casco.

No que toca a urgências tivemos 9 casos, um animal com fratura acima do curvilhão que acabou por ser eutanasiado, 3 casos de suspeita de febre do nilo, no entanto apenas 2 foram confirmados positivos, 3 feridas que necessitaram de ser suturadas e por fim 2 cólicas sendo que um dos animais teve que ser referenciado para o hospital da faculdade.

Na área de reprodução acompanhámos cerca de 8 animais, pude observar várias ecografias para identificação das fases do ciclo éstrico e variações ecográficas entre elas, inseminação artificial com sémen fresco, manejo médico quer de indução de estro, quer de ovulação, assim como diagnóstico e tratamento médico no caso de éguas infetadas. Efetuámos ainda 4 diagnósticos de gestação positivos. Observámos ainda um caso peculiar de laceração de clitóris onde foi efetuada uma clitoroplastia.

Foram efetuadas 3 cirurgias a campo todas com técnica aberta, uma utilizando a técnica em estação, outra com o equino em decúbito lateral, e uma última num asinino em decúbito e com utilização de ligaduras. Todos os animais recuperaram sem complicações. Com estes casos pude aprofundar o meu conhecimento sobre as várias técnicas cirúrgicas a utilizar, a anestesia local e geral e as diferenças entre equinos e asininos nestes aspetos.

Os 7 casos de medicina interna observados foram variados, observámos vários cavalos com sintomas respiratórios os quais foram submetidos a ecografia pulmonar e exame físico detalhado assim como colheita de sangue para análises gerais, foi testado um animal assintomático para piroplasmose e por fim, foram diagnosticados e tratados 2 casos de síndrome de Cushing.

As áreas que tiveram menos expressão foram neonatologia, onde apenas tivemos um caso, fruto provavelmente da época do ano em que nos encontramos, este poldro depois de ser orientado para tal conseguiu aprender a mamar e no dia seguinte efetuou-se a medição

de IgG que se encontravam conforme. Na área de oftalmologia, acompanhámos 3 casos no total, 2 névoas que não evoluíram para úlceras de córnea uma vez que se iniciou logo tratamento preventivo e um caso de ... que teve que ser corrigido por cirurgia efetuada na faculdade (poldro da campline )

Em termos práticos foi-me possível administrar medicações por via oral, intramuscular e endovenosa, tive oportunidade de realizar dentisterias e pensos, auxiliar em anestésias gerais, identificar animais com respetivo preenchimento dos resenhos, auxiliar nos métodos de radiografia e ecografia, entre outros.

No decorrer dos últimos três meses pude aprofundar o meu conhecimento médico em várias áreas, descobrir outros objetos de interesse que ainda não tinha ponderado, identificar a importância de um estudo atento e ativo na área em que nos encontramos e saber conciliar as condições que temos por estarmos no campo com os objetivos a cumprir. As longas horas e longas distâncias por vezes acabam por toldar o nosso raciocínio e devemos ao máximo evitar que isso aconteça e procurar fazer o nosso trabalho da melhor forma que nos é possível. Além do mais, a colaboração que pude testemunhar entre colegas é digna de nota e penso que cada vez mais a nossa profissão passará por este tipo de colaborações com o objetivo final de termos melhor qualidade de vida, quer pessoal quer profissional.

## 2.Revisão bibliográfica

### 2.1 O que é a asma?

A asma é uma doença inflamatória crônica das vias respiratórias, caracterizada por uma obstrução variável e reversível das vias aéreas por hiper responsividade brônquica e remodelação das vias respiratórias (Couetil et al. 2020).

Os sinais clínicos mais observados são, entre outros, tosse, descarga nasal, sons respiratórios como *crakles* ou *wheezes*, dificuldade respiratória visível e intolerância ao exercício (Leclere et al. 2011) que são frequentemente desencadeados por estímulos específicos. Embora seja mais associada aos humanos, a asma também afeta outras espécies, incluindo os equinos, onde assume uma importância clínica de nota dado o seu impacto no desempenho dos atletas.

Nos cavalos, a asma é dividida em dois grandes grupos: a asma equina severa e a asma equina leve ou moderada, a distinção entre as duas pode ser desafiante, especialmente quando a asma severa se encontra em remissão clínica parcial. A designação anterior de Doença Inflamatória das Vias Aéreas (IAD) refere-se agora à asma equina leve a moderada (MMA), enquanto que o termo Obstrução Recorrente das Vias Aéreas (RAO) corresponde agora à forma severa da asma equina (SEA). A diferenciação entre elas depende de fatores como a idade, a evolução temporal da doença, os sinais clínicos e a confirmação diagnóstica através de citologia do lavado broncoalveolar (BALF), endoscopia e testes de função pulmonar (Couëttil et al. 2016a). No entanto, a citologia do BALF é considerada o método padrão para caracterizar a inflamação pulmonar associada à SEA, enquanto os testes de função pulmonar são mais úteis para avaliar o grau de obstrução das vias aéreas (Couëttil et al., 2016; Mazan & Hoffman, 2003).

De acordo com Couëttil et al. 2016 a asma leve a moderada afeta tipicamente cavalos jovens/meia-idade e desenvolve-se ao longo de um período mínimo de 4 semanas. Os sinais clínicos incluem tosse esporádica e desempenho reduzido, mas não há esforço respiratório evidente em repouso. A condição pode resolver-se espontaneamente ou com tratamento, apresentando um baixo risco de recorrência. A asma severa manifesta-se geralmente em cavalos adultos com mais de 7 anos e é marcada por tosse frequente, intolerância ao exercício e um esforço respiratório acentuado, mesmo em repouso. A gravidade e a natureza dos sinais podem flutuar ao longo do tempo, persistindo habitualmente durante semanas a meses antes do diagnóstico. Embora a SEA responda bem a um manejo ambiental rigoroso ou ao tratamento, não pode ser completamente curada, apenas controlada (Couëttil et al. 2016). A doença pode ainda exibir padrões sazonais.

Ambas as formas da doença envolvem a acumulação de muco nas vias aéreas, o que contribui para a obstrução das vias aéreas e para a sintomatologia clínica observada (Couëttil et al. 2016a).

Além disso, a SEA está frequentemente associada a uma neutrofilia moderada a grave no BALF (>25% neutrófilos), enquanto na MMA pode haver um ligeiro aumento de neutrófilos, eosinófilos ou mastócitos, sem evidências de limitação do fluxo de ar em repouso (Couëttil et al., 2016; Kinnison et al., 2022). A detecção da limitação do fluxo de ar na SEA é realizada através da técnica do cateter de balão esofágico, que permite medir a pressão pleural diferencial ( $\Delta P_{pl}$ ), sendo este um dos principais marcadores fisiológicos da gravidade da obstrução brônquica (Mazan & Hoffman, 2003; Simões et al., 2019).

### 2.1.1 Etiologia

A asma, tanto em humanos como em cavalos, resulta de uma interação complexa entre fatores genéticos, ambientais e imunológicos.

Os principais fatores desencadeantes da doença são poeiras orgânicas e inorgânicas, presentes em altas concentrações em estábulos fechados. Estes incluem esporos fúngicos (*Aspergillus fumigatus*, *Faenia rectivirgula*, *Thermoactinomyces vulgaris*); endotoxinas bacterianas e fragmentos de bactérias Gram-negativas e ácaros (Séguin et al. 2012; Couëttil et al. 2020).

Estudos demonstram que partículas com diâmetro inferior ou igual a 5  $\mu\text{m}$  são particularmente perigosas, uma vez que conseguem atingir porções mais distais das vias respiratórias, provocando lesão e inflamação crônica do epitélio (Clarke 1987; Ivester et al. 2014). A concentração de poeira respirável num estábulo fechado é 3 a 14 vezes superior à do exterior, sendo agravada pela ventilação inadequada e por condições de humidade que favorecem o crescimento de fungos e ácaros (McGorum et al. 1998).

A alimentação com feno e o uso de camas de palha são fatores de risco relevantes. O feno seco, especialmente quando armazenado com elevado teor de humidade, torna-se uma reserva importante de esporos fúngicos, endotoxinas e ácaros, que aumentam a resposta inflamatória (Robinson et al. 2000). Comparativamente, feno húmido ou feno-silagem reduz drasticamente a exposição a partículas inaláveis. Da mesma forma, substituir camas de palha por materiais sintéticos diminui a concentração de poeiras até 97% (Clements and Pirie 2007).

Segundo Couëttil, Jacqueline M Cardwell, et al. 2020 podemos distinguir um tipo de asma associada a pastagens caracterizada por episódios de obstrução reversível das vias aéreas em cavalos que pastam durante o verão em climas quentes e húmidos que afeta maioritariamente cavalos adultos sem preferência por sexo. Os episódios geralmente iniciam-se em julho e persistem até que as temperaturas e a humidade diminuam, entre outubro e novembro (Costa et al. 2006). A melhoria clínica, muitas vezes rápida (horas a dias), após

maneio ambiental é uma característica de diagnóstico essencial nos casos identificados. Nestes casos é frequente existir uma inflamação neutrofílica crônica, hiperreatividade brônquica e remodelação das vias aéreas (Costa et al. 2000; Ferrari et al. 2018).

Além dos fatores ambientais, estudos indicam que determinadas famílias de cavalos apresentam maior suscetibilidade à resposta inflamatória exacerbada quando expostas a partículas inaláveis, sugerindo um modelo hereditário complexo (Couetil et al. 2020). O estudo das respostas específicas de IgE (imunoglobulina E) e das vias imunológicas Th17/Th2 (células T auxiliares 17 e 2, respetivamente) pode explicar a diversidade de fenótipos observados na SEA (Pacholewska et al. 2017).

### **2.1.2 Paralelo com a asma humana**

A asma equina severa é predominantemente caracterizada por uma resposta neutrofílica, ao contrário da asma humana alérgica, frequentemente dominada por uma resposta eosinofílica mediada por citocinas T2. Embora a inflamação neutrofílica seja o principal padrão na SEA, foi identificada também a expressão de citocinas T2, como IL-5 (interleucina 5) e IL-13 (interleucina 13), sugerindo que mecanismos típicos de asma alérgica também podem estar envolvidos em determinados casos (Cordeau et al. 2004a).

Além disso, há evidências crescentes do envolvimento de IL-17 (interleucina 17) na SEA. A IL-17, produzida pelas células Th17, está diretamente associada à sobrevivência prolongada dos neutrófilos, o que perpetua a inflamação e agrava a obstrução brônquica. Esta ação específica torna estes animais resistentes ao tratamento com corticosteroides (Debrue et al. 2005; Murcia et al. 2016).

Apesar da predominância da inflamação neutrofílica na SEA, que na asma humana é menos responsiva ao tratamento com esteroides, a SEA apresenta uma resposta favorável à administração de corticosteroides. Esta resposta positiva destaca uma diferença fisiopatológica importante entre a SEA e a asma neutrofílica humana. Embora os mecanismos exatos não sejam totalmente compreendidos, sugere-se que a natureza da resposta inflamatória na SEA, bem como o estímulo ambiental desencadeante, pode contribuir para esta resposta terapêutica superior em cavalos (Couetil et al. 2020). No entanto, é de notar que a eficácia dos corticosteroides na SEA está muitas vezes condicionada à remoção do estímulo desencadeante.

Tanto a SEA quanto a asma humana severa partilham alterações estruturais significativas conhecidas como remodelação das vias aéreas. Este fenómeno é consequência da inflamação crônica persistente e inclui espessamento da parede brônquica, hiperplasia e hipertrofia da musculatura lisa, hiperplasia das células caliciformes e por fim perda das células ciliadas e alteração da função de *clearance* mucociliar (Couetil et al. 2020).

Na asma humana severa, o foco em componentes críticos da remodelação, como o aumento da massa do músculo liso, tem sido limitado, representando uma área prioritária para investigação futura. A relevância destas investigações reside no facto de que a SEA, ao partilhar características fisiopatológicas semelhantes com a asma humana severa, pode servir como um modelo útil para o estudo de terapias inovadoras destinadas a prevenir ou reverter a remodelação estrutural e melhorar a função pulmonar a longo prazo (Couetil et al. 2020).

### **2.1.3 Fisiopatologia**

A SEA caracteriza-se por uma infiltração neutrofílica persistente, com papel central das citocinas pró-inflamatórias IL-8 (interleucina 8) e IL-17. A IL-8 promove o recrutamento de neutrófilos para o epitélio respiratório, perpetuando a inflamação, já a IL-17, produzida pelas células Th17, contribui para a sobrevivência prolongada dos neutrófilos, tornando a resposta inflamatória mais resistente a corticosteroides (Pacholewska et al. 2017).

Apesar da predominância neutrofílica, estudos identificaram a expressão de citocinas T2, como IL-5 e IL-13, sugerindo uma possível sobreposição de respostas imunes Th2 e Th17 em alguns casos (Cordeau et al. 2004b; Couetil et al. 2020). Esta diversidade inflamatória reflete a complexidade da fisiopatologia da SEA.

A inflamação crónica induz alterações estruturais das vias respiratórias, um processo conhecido como remodelação, que agrava os sintomas e compromete a função pulmonar. As principais alterações incluem a hiperplasia e hipertrofia do músculo liso, resultando na redução do lúmen brônquico e hiperreatividade das vias respiratórias; espessamento da submucosa devido à deposição excessiva de colagénio e fibrose; hiperplasia das células caliciformes e aumento da produção de muco, que obstrui mecanicamente as vias aéreas; perda das células ciliadas, prejudicando a clearance mucociliar e facilitando o acúmulo de secreções (Gerber et al. 2009; Couetil et al. 2020).

Embora estas alterações sejam estruturais, estudos mostram que parte da remodelação é reversível com o uso de corticosteroides e, sobretudo, com a remoção do estímulo ambiental, como poeiras ou esporos fúngicos (Bullone and Lavoie 2020).

O stress oxidativo desempenha um papel relevante na perpetuação da inflamação crónica e na disfunção epitelial. A presença de níveis aumentados de peróxidos e a diminuição de antioxidantes, como o ácido ascórbico, contribuem para os danos celulares no epitélio respiratório (Deaton 2006). Este desequilíbrio amplifica a resposta inflamatória, agravando as alterações estruturais observadas.

A produção excessiva de muco é um fator crucial na SEA, agravado pela hiperplasia das células caliciformes e pela alteração das propriedades do muco em resposta à inflamação crónica. A sobre-expressão do gene EqMUC5AC e as alterações viscoelásticas contribuem

para a obstrução mecânica das vias aéreas, agravando os sintomas respiratórios (Gerber et al. 2009).

Em cavalos asmáticos, a disfunção das vias nervosas NANC (nonadrenergic-noncholinergic), associada a uma resposta exagerada do músculo liso a estímulos colinérgicos e à inflamação crônica, intensifica o broncospasmo e a obstrução (Abraham et al. 2006).

#### **2.1.4 Impacto económico**

A asma equina tem vindo também a aumentar a preocupação por parte dos proprietários dos equinos uma vez que acarreta despesas médico veterinárias, entre consultas, análises e medicação que podem chegar a valores avultados (Barton and Gehlen 2016; Couëtil et al. 2016b).

A asma equina tem vindo a ganhar maior atenção e preocupação por parte dos proprietários de equinos. Este aumento de alerta está diretamente relacionado com as consequências financeiras e de saúde que a doença acarreta. Além de comprometer o desempenho físico e o bem-estar geral do animal, a gestão e o tratamento da asma equina impõem encargos financeiros consideráveis (Barton and Gehlen 2016).

As despesas associadas ao diagnóstico e tratamento da asma equina incluem consultas veterinárias regulares, exames especializados como endoscopias e radiografias, análises laboratoriais detalhadas, e a aquisição de medicamentos, como broncodilatadores, corticosteroides e terapias de suporte. Em muitos casos, o tratamento pode exigir o uso de inaladores específicos, cujo custo é frequentemente elevado, dado o preço dos dispositivos e da medicação adaptada à espécie (Couetil et al. 2020).

Outro fator que contribui para o aumento das despesas é a necessidade de alterar as condições ambientais do animal para reduzir a exposição a fatores desencadeantes, estas mudanças podem incluir a aquisição de feno de qualidade superior, instalação de sistemas de ventilação nos estábulos e até a substituição da cama convencional por materiais hipoalergénicos, todos eles investimentos significativos.

#### **2.1.5 Diagnósticos diferenciais**

Segundo (Couëtil et al. 2016a) os diagnósticos diferenciais incluem outras condições respiratórias tais como infeção por parasitas pulmonares, infeção viral ou bacteriana que culmina numa bronquite ou broncopneumonia, hemorragia pulmonar induzida pelo esforço e doença do trato respiratório superior.

Abordando agora cada um deles, a infeção por parasitas pulmonares pode ser confirmada através da coprologia ou lavagem traqueal. Para diagnóstico de neoplasias pulmonares são necessárias várias técnicas de imagiologia como radiografias e tomografias

podendo mesmo ser necessário fazer um biópsia. Infecções bacterianas ou virais podem ser identificadas através não só dos sinais clínicos mas também de análises laboratoriais, culturas e testes sorológicos. A hemorragia pulmonar induzida pelo exercício é mais prevalente em cavalos de corrida após esforços exigentes, o diagnóstico confirma-se por presença de sangue nas vias respiratórias detetado por endoscopia ou lavado broncoalveolar. Doenças como paralisia laríngea e deslocamento do palato mole podem também mimetizar os sinais clínicos de asma por isso para sua exclusão deve efetuar-se uma endoscopia, por vezes beneficiamos de efetuar uma endoscopia dinâmica.

## **2.2 Métodos de Diagnóstico da Asma Equina**

O diagnóstico da asma equina representa um desafio significativo devido à variabilidade dos seus sinais clínicos e à possível sobreposição com outras patologias respiratórias. Este desafio é particularmente evidente em casos subclínicos de doença onde os sintomas pouco notórios ou inexistentes tornam essencial uma abordagem diagnóstica sistemática e multidisciplinar. A combinação da história clínica detalhada, exames físicos rigorosos, técnicas laboratoriais avançadas e novos métodos de diagnóstico tem sido fundamental para melhorar a precisão e a caracterização da doença. Cada um dos métodos utilizados desempenha um papel único e complementar, com diferentes níveis de sensibilidade e especificidade dependendo do estadio e fenótipo da asma equina.

Atualmente existem testes denominados como gold standard para estadiamento da asma equina, entre eles estão: citologia do lavado broncoalveolar, concentração de histamina na broncoprovocação, pressão parcial de oxigénio ( $\text{PaO}_2$ ) e variação da pressão pleural avaliada por plentismografia ( $\Delta\text{Ppl}$ ).

### **2.2.1 História clínica**

O processo diagnóstico começa frequentemente com uma história clínica detalhada, que fornece informações cruciais sobre fatores predisponentes, como a exposição a alérgenos ambientais, bem como a recorrência de sinais respiratórios, como tosse e intolerância ao exercício (Couetil et al. 2020). Este levantamento inicial é particularmente importante para identificar padrões sazonais. No exame físico, a auscultação pulmonar pode revelar sons anormais, como sibilos e estertores, que são indicativos de obstrução das vias aéreas ou de presença de muco. Sinais adicionais, como dilatação das narinas, esforço abdominal na respiração e movimentos respiratórios paradoxais, são comuns em casos moderados a graves, mas podem ser ausentes em estadios mais leves, dificultando a deteção precoce da doença (R S Pirie 2014; Kozłowska et al. 2022).

### **2.2.2 Radiografias torácicas**

As radiografias torácicas, por outro lado, são uma ferramenta valiosa para avaliar alterações estruturais nos pulmões e nas vias respiratórias. Nos casos crônicos, podemos encontrar padrões vasculares e intersticiais marcados, espessamento das bifurcações brônquicas e aumento da opacidade pulmonar. Estas alterações são frequentemente acompanhadas de bronquiectasia, hiperinsuflação pulmonar e deslocamento inferior das margens pulmonares, o que se traduz em alterações irreversíveis a nível do parênquima pulmonar (Kozłowska et al. 2022). No entanto, as radiografias apresentam limitações importantes, já que estas alterações não são específicas da asma equina e podem estar ausentes nos estádios iniciais ou subclínicos (Couëtil et al. 2016b), como tal, este método é mais útil para confirmar casos avançados ou excluir outras condições respiratórias.

### **2.2.3 Endoscopia e BALF**

A citologia do fluido de lavagem broncoalveolar (BALF) é amplamente reconhecida como o gold standard para o diagnóstico e monitorização da asma equina severa (EAS), permitindo uma avaliação detalhada da inflamação das vias aéreas inferiores (Jean et al. 2011; R. S. Pirie 2014). Diferente da lavagem traqueal, a análise do BALF fornece uma visão mais precisa das pequenas vias aéreas e alvéolos, tornando-se um indicador mais sensível da disfunção da troca gasosa e permitindo a identificação de casos de EAS grave (Hoffman 1999; Couëtil et al. 2016c).

A colheita do BALF pode ser realizada em cavalos ligeiramente sedados, tanto em ambiente hospitalar como em campo, utilizando um endoscópio flexível ou um cateter de BALF com um balão insuflável na extremidade (Hoffman 1999; Mazan and Hoffman 2003). O procedimento consiste na introdução do endoscópio ou cateter através da nasofaringe até à traqueia, onde é avançado até um brônquio de pequeno calibre, onde se fixa para permitir a instilação de solução salina estéril e posterior recolha do fluido (Hoffman 2008; Tilley, J.P. Sales Luis, et al. 2012).

O BALF colhido representa uma amostra global do estado inflamatório pulmonar, e estudos demonstram que a composição celular é semelhante entre os dois pulmões, com exceção dos mastócitos (Jean et al. 2011). Em animais saudáveis, a amostra apresenta uma camada superficial de surfactante pulmonar com os macrófagos alveolares a constituírem a população predominante (40-70%), seguidos pelos linfócitos (30-60%), e, em menor quantidade, neutrófilos (<5%), mastócitos (<2%) e eosinófilos (<1%) (Robinson et al. 2000; Hotchkiss JW and Christley R 2007; Couëtil and Hawkins 2013). Nos cavalos asmáticos, a citologia do BALF revela neutrofilia superior a 20-25%, com uma diminuição proporcional dos macrófagos e linfócito (Tilley, J. P. Sales Luis, et al. 2012; Couëtil et al. 2016c). No entanto, existe uma ampla variação na percentagem de neutrófilos (10-98%) em função do estado da

doença, sendo que, nos casos mais graves e crónicos, pode observar-se acumulação excessiva de muco sob a forma de espirais de Curschmann (Hoffman 2008; Couëtil and Hawkins 2013).

Recentemente, sugeriu-se que, tal como na asma humana, diferentes fenótipos citológicos podem caracterizar a EAS severa. Para além do fenótipo clássico neutrofílico, alguns cavalos apresentam um fenótipo paucigranulocítico, no qual há um aumento moderado (5-20%) ou ausência de elevação de neutrófilos no BALF (Leclere 2011 e Bullone e Lavoie 2017). Embora o impacto destes fenótipos na progressão da doença ainda não esteja totalmente compreendido, os casos paucigranulocíticos estão frequentemente associados a maior retenção de muco e lesões nas vias aéreas periféricas, sendo também postulada a possibilidade de uma transição entre fenótipos ao longo do tempo (Bruijnzeel et al. 2015).

O BALF tem demonstrado correlação direta com a obstrução das vias aéreas e a reatividade brônquica (Hoffman 2008), sendo que um aumento da percentagem de neutrófilos está geralmente associado a maior gravidade da doença (Léguillette 2003). Contudo, cavalos asmáticos em remissão clínica podem apresentar apenas uma ligeira elevação na contagem de neutrófilos (Miskovic et al. 2007). Além disso, a neutrofilia do BALF correlaciona-se com sintomas clínicos como tosse e acumulação de muco nas vias aéreas, avaliados por endoscopia (Bedenice et al. 2008). No entanto, a neutrofilia não é um requisito absoluto para a deterioração da função pulmonar, uma vez que há casos de EAS severa com disfunção respiratória sem elevação marcante de neutrófilos (Couëtil et al. 2006).

É importante destacar que a neutrofilia do BALF não se normaliza se o cavalo permanecer exposto a fatores ambientais desencadeantes, mesmo sob tratamento com corticosteroides (Couëtil et al. 2006; Leclere et al. 2012). De facto, a permanência em estábulo, a alimentação com feno seco e a exposição a fungos têm sido associadas a níveis persistentemente elevados de neutrófilos no BALF (Fairbairn et al. 1993). Além disso, a percentagem de neutrófilos no BALF pode ser utilizada para estadiar a EAS severa, dado que apresenta forte correlação com os sinais clínicos, as alterações identificadas na radiografia torácica e o índice de muco endoscópico (Tilley, J.P. Sales Luis, et al. 2012). No entanto, o procedimento de BAL deve ser sempre realizado após a avaliação da função pulmonar, uma vez que foi demonstrado que pode induzir uma melhoria transitória da resistência pulmonar (RL), possivelmente devido à remoção de muco durante o procedimento (Léguillette and Lavoie 2006).

Embora o BALF seja considerado uma ferramenta essencial na avaliação da inflamação pulmonar na EAS, a sua realização pode ser limitada em contexto de campo, devido à necessidade de equipamento especializado e pessoal treinado (R. S. Pirie 2014). Em Portugal, este procedimento ainda não é amplamente disponibilizado, sendo essencial

continuar a desenvolver alternativas não invasivas e acessíveis para o estadiamento e monitorização da asma equina.

## **2.2.4 Testes de função pulmonar**

Os testes de função pulmonar, por sua vez, outros métodos padrão de avaliação respiratória oferecem uma avaliação quantitativa da gravidade da obstrução das vias aéreas e da eficiência das trocas gasosas. A análise de gases arteriais (ABG) é amplamente utilizada para medir parâmetros como PaO<sub>2</sub>, a PaCO<sub>2</sub> (pressão parcial de dióxido de carbono) e pH, sendo a hipoxémia e a hipercapnia observações comuns em casos graves (Stopyra et al. 2012a). A broncoprovocação, que utiliza agentes broncoconstritores como histamina ou metacolina, avalia a hiper-responsividade das vias aéreas. Cavalos asmáticos apresentam uma sensibilidade consideravelmente maior a estes fármacos, necessitando de doses significativamente menores para induzir alterações funcionais em comparação com cavalos saudáveis (Nolen-Walston et al. 2009a). Adicionalmente, a plentismografia fornece informações detalhadas sobre a resistência e elastância pulmonar, estando diretamente relacionadas com a capacidade de insuflação do pulmão, sendo particularmente útil para monitorizar a gravidade da obstrução em cavalos asmáticos (Dixon et al. 2021).

### **2.2.4.1 Broncoprovocação**

A broncoprovocação é um teste fundamental para avaliar a hiper-responsividade das vias aéreas (AHR), característica comum em cavalos com asma equina severa (EAS). Este método permite quantificar o grau de obstrução reversível das vias respiratórias em resposta a um estímulo broncoconstritor, geralmente histamina ou metacolina, amplamente utilizados tanto na investigação como na prática clínica (Couëtil and Hawkins 2013).

Nos cavalos asmáticos, especialmente em casos de exacerbação da doença, a AHR está invariavelmente presente, resultando numa resposta exagerada a estímulos broncoconstritores devido à ativação do músculo liso brônquico, acúmulo de muco e hiperplasia epitelial, fatores que contribuem para um estreitamento significativo das vias aéreas e aumento exponencial da resistência ao fluxo de ar (Couëtil and Hawkins 2013). Mesmo em cavalos em remissão clínica, esta reatividade mantém-se em menor grau, tornando a broncoprovocação uma ferramenta útil para detetar obstruções de baixo grau sem sinais clínicos evidentes (Mazan et al. 1999; Rettmer et al. 2015a; Wichtel et al. 2016).

O teste é realizado através da nebulização progressiva de concentrações crescentes de histamina ou metacolina, intercaladas com medições dos parâmetros da função pulmonar. O protocolo padrão envolve a administração de uma solução salina como controlo negativo, seguida de doses crescentes dos agentes broncoconstritores (histamina: 2-32 mg/ml; metacolina: 0.001-3 mg/ml). O teste é interrompido quando se atinge um critério pré-definido

de alteração funcional ou caso o cavalo apresente sinais de desconforto respiratório severo (Rettmer et al. 2015a).

Os critérios de fim do teste variam conforme a técnica de monitorização utilizada: uma redução de 35% na complacência dinâmica ( $C_{dyn}$ ) na mecânica pulmonar convencional, um aumento de 35% no  $\Delta flow$  na pletismografia flowmetric ou um dobro da resistência respiratória (RRS) a 1Hz na oscilometria forçada (Hoffman 1999; Wichtel et al. 2016).

A broncoprovocação aumenta significativamente a sensibilidade dos testes de função pulmonar, permitindo detetar obstruções precoces ou discretas que poderiam passar despercebidas na avaliação clínica ou em exames convencionais (Mazan and Hoffman 2003; Couëtil and Hawkins 2013)). Além disso, o protocolo de escalonamento progressivo das doses torna o procedimento seguro e controlado, com possibilidade de reversão imediata dos efeitos broncoconstritores através da administração de broncodilatadores de ação rápida e corticosteroides intravenosos, caso ocorra uma resposta excessiva (Nolen-Walston et al. 2009b).

#### **2.2.4.2 Pressão pleural**

A avaliação da função pulmonar na asma equina severa (EAS) tem sido tradicionalmente baseada na mecânica pulmonar convencional, que é considerada o gold standard para testes de função respiratória há mais de cinquenta anos (Derksen et al. 1982). Este método envolve a medição das variações de pressão pleural ( $\Delta P_{pl}$ ) através de um cateter de balão esofágico e a monitorização do fluxo de ar nas narinas com um pneumotacógrafo, permitindo a avaliação da resistência das vias aéreas e do esforço respiratório (Robinson et al. 2001; Couëtil et al. 2016c). Nos cavalos com EAS grave, valores elevados de  $\Delta P_{pl}$  ( $>15$  cm  $H_2O$ ), aumento da resistência pulmonar (RL) e maior trabalho respiratório indicam uma obstrução significativa das vias aéreas (Robinson et al. 2000). No entanto, este método tem limitações, como a baixa sensibilidade para detetar obstruções em pequenas vias aéreas, além de ser um procedimento invasivo que pode interferir com as leituras devido à deglutição induzida pelo cateter esofágico (Mazan and Hoffman 2003). Para aumentar a sua precisão, a mecânica pulmonar convencional pode ser combinada com testes de broncoprovocação com histamina ou metacolina, que permitem uma deteção mais sensível da hiperreatividade brônquica e de obstruções de grau leve (Couëtil and Hawkins 2013).

Mais recentemente, foram desenvolvidas técnicas não invasivas de avaliação da função pulmonar, como a pletismografia por indutância respiratória, aplicada na chamada *flowmetric plethysmography* (Hoffman et al. 2001). Este método, derivado da pletismografia sem caixa (Konno & Mead, 1967), combina a medição do fluxo de ar através de um pneumotacógrafo com a colocação de bandas elásticas no tórax e no abdómen para avaliar as alterações na área transversal de cada compartimento (Miller et al., 2000; (Mazan and

Hoffman 2003)). A técnica baseia-se na diferença entre o fluxo medido pelo pneumotacógrafo e o registado pelas bandas durante a expiração, conhecida como delta flow ( $\Delta$ flow). À medida que a obstrução das vias aéreas se agrava, a diferença entre estes valores aumenta, refletindo um maior grau de limitação ao fluxo aéreo (Nolen-Walston et al. 2009c).

A pletismografia de fluxo é uma alternativa promissora para a avaliação da asma equina, pois não requer sedação e permite medir variáveis como a sincronia toracoabdominal e o volume pulmonar ao final da expiração (Mazan and Hoffman 2003). Embora a sua sensibilidade seja semelhante à da mecânica pulmonar convencional, quando associada à broncoprovocação com histamina melhora significativamente a deteção de cavalos asmáticos, inclusive os que se encontram em remissão clínica (Rettmer et al. 2015a; Wichtel et al. 2016). Além disso, o sistema Open Pleth™, um dispositivo comercialmente disponível, oferece uma abordagem portátil e prática para a avaliação funcional de cavalos com EAS em ambiente de campo (Nolen-Walston et al. 2009c).

#### **2.2.4.3 Gasimentrial arterial**

Além da mecânica pulmonar convencional, a análise de gases arteriais (ABG) constitui um método essencial para avaliar a eficiência das trocas gasosas e a função respiratória nos cavalos com EAS grave (Chevalier and Divers 2003). Este exame fornece informações sobre a ventilação alveolar, a oxigenação sanguínea e o equilíbrio ácido-base, permitindo estimar o grau de comprometimento respiratório (Irizarry and Reiss 2009). Em cavalos adultos, a colheita de amostras pode ser realizada sem sedação, recorrendo à punção da artéria facial transversa ou da artéria carótida (Picandet et al. 2007). Para garantir medições precisas, as amostras devem ser recolhidas de forma anaeróbica e analisadas rapidamente, uma vez que atrasos na análise podem alterar os resultados. Além disso, é recomendável evitar sedação, especialmente com agonistas  $\alpha_2$ , pois estes reduzem a ventilação minuto, resultando em hipoxemia e hipercapnia artificiais (Nyman et al., 2009).

Os cavalos afetados por EAS grave geralmente apresentam valores reduzidos de  $\text{PaO}_2$ ,  $\text{sO}_2$  e pH, acompanhados por um aumento da  $\text{PaCO}_2$ , sendo a hipoxemia a alteração mais comum (Sánchez et al. 2005; Stopyra et al. 2012b). Em cavalos saudáveis, a  $\text{PaO}_2$  varia entre 90 e 100 mmHg (Couëtil and Hawkins 2013), mas, nos asmáticos, a hipoxemia tende a agravar-se com a progressão da doença (Sánchez et al. 2005). A inflamação das vias aéreas, o remodelamento bronquial e a acumulação de muco contribuem para a deterioração das trocas gasosas, levando a desequilíbrios na ventilação/perfusão e ao aumento do espaço morto. Nos períodos de exacerbação da doença, os valores de  $\text{PaO}_2$  podem cair para menos de 80 mmHg, indicando uma redução significativa na capacidade de oxigenação (Stopyra et al. 2012a; Couëtil and Hawkins 2013)). No entanto, em estágios iniciais da inflamação ou durante remissões clínicas, os níveis de oxigenação podem permanecer dentro dos valores

normais (Ferro et al. 2002). Embora a ABG forneça informações valiosas sobre a gravidade da doença, a sua sensibilidade para detetar casos leves é limitada, razão pela qual deve ser utilizada em conjunto com outros métodos diagnósticos para uma avaliação mais abrangente da função pulmonar (Stopyra et al. 2012b) .

#### **2.2.4.4 Biomarcadores moleculares**

A integração de biomarcadores moleculares representa um avanço promissor no diagnóstico da asma equina, especialmente em estadios subclínicos. Estudos recentes sugerem que proteínas inflamatórias específicas, como interleucinas (IL-4, IL-5) e TNF- $\alpha$ , bem como neutrophil extracellular traps (NETs), podem ser usadas como indicadores precoces de inflamação pulmonar (Meiseberg et al. 2024). Técnicas avançadas de imagem, como ultrassonografia endobronquial e tomografia computadorizada, também têm sido exploradas como métodos complementares para detetar alterações estruturais mínimas e avaliar a função pulmonar de forma não invasiva (Couetil et al. 2020).

Os estudos genéticos e genómicos também estão a ganhar relevância, com a identificação de polimorfismos genéticos associados a respostas inflamatórias específicas e ao remodelamento pulmonar. Estas descobertas podem não apenas facilitar a personalização do diagnóstico, mas também abrir caminho para abordagens terapêuticas mais direcionadas (R S Pirie 2014).

O diagnóstico da asma equina é, portanto, um processo dinâmico que requer a combinação de métodos tradicionais e inovadores. Apesar das limitações associadas aos métodos convencionais, como radiografias e endoscopia, a citologia do BALF continua a ser a técnica mais fiável para a avaliação da inflamação pulmonar. O desenvolvimento contínuo de biomarcadores e tecnologias avançadas promete melhorar significativamente a precisão e a eficácia do diagnóstico, possibilitando intervenções mais precoces e personalizadas, algo essencial para o manejo eficaz desta doença. Este progresso é particularmente relevante para o bem-estar animal e para o avanço da medicina veterinária.

### **2.3 Asma Equina e a Utilização de Inteligência Artificial para o Estadiamento e Controlo por Tutores**

Nos últimos anos, a inteligência artificial tem demonstrado um enorme potencial para superar as limitações presentes na medicina, um exemplo notável é a colaboração entre a Boehringer Ingelheim e a Sleip, que resultou no desenvolvimento de uma aplicação baseada em IA (inteligência artificial) para o diagnóstico de problemas do aparelho locomotor em

cavalos. Esta aplicação permite aos veterinários gravar movimentos do cavalo com um smartphone, eliminando a necessidade de equipamentos complexos, e os dados são analisados em minutos para identificar padrões de locomoção anormais (Ingelheim 2024 Sep 2). Inspirada por esta abordagem, surge a possibilidade de adaptar tecnologias semelhantes para o manejo da asma equina. Uma aplicação dedicada poderia utilizar IA para analisar vídeos gravados por tutores e veterinários, captando padrões respiratórios e comportamentos associados a sintomas da doença.

A aplicação proposta, que está a ser desenvolvida por uma colega de outra área, funcionaria através da gravação de vídeos de cavalos em repouso ou durante o exercício, utilizando smartphones. Os algoritmos de IA analisaria os padrões respiratórios, identificando alterações subtis na frequência respiratória, presença de tosse ou dilatação das narinas, que muitas vezes passam despercebidas em avaliações visuais tradicionais. Esta análise em tempo real permitiria uma deteção precoce da asma equina, mesmo antes que os sinais clínicos se tornassem evidentes, facilitando intervenções rápidas e eficazes. Além disso, a aplicação poderia monitorizar a resposta ao tratamento, fornecendo dados objetivos sobre a evolução do estado clínico do cavalo.

Os benefícios de uma abordagem baseada em IA vão além da deteção precoce. Ao integrar veterinários e tutores no processo de monitorização, esta tecnologia promove uma comunicação mais eficiente e aumenta a adesão ao tratamento. Estudos indicam que a utilização de IA pode melhorar a precisão diagnóstica em até 90% em algumas patologias veterinárias, sendo provável que a asma equina beneficie de resultados semelhantes (Lederhouse 2023 Apr). Além disso, a capacidade de monitorizar sintomas e fatores ambientais de forma contínua permitiria um manejo mais proativo.

Apesar do seu potencial, a implementação de IA para o manejo da asma equina enfrenta desafios. A criação de algoritmos precisos requer um volume significativo de dados de cavalos asmáticos e saudáveis em diferentes estadios da doença. É também crucial que a tecnologia seja acessível e fácil de usar para tutores. Além disso, questões éticas e de privacidade relacionadas com o armazenamento e uso dos dados devem ser cuidadosamente consideradas para assegurar conformidade com as normas internacionais.

No futuro, espera-se que a IA se integre com outras tecnologias, como sensores ambientais e biomarcadores moleculares, para criar um ecossistema de monitorização contínua. Sensores instalados nos estábulos poderiam monitorizar fatores como níveis de pó e amoníaco, enquanto biomarcadores específicos identificariam inflamações precoces ou respostas ao tratamento. Essa combinação de tecnologias proporcionaria uma visão holística da saúde respiratória dos cavalos, permitindo intervenções personalizadas e mais eficazes (Meiseberg et al. 2024).

Concluindo, a utilização de inteligência artificial no diagnóstico e manejo da asma equina representa um avanço significativo na medicina veterinária. Ferramentas baseadas em IA têm o potencial de transformar a forma como tutores e veterinários gerem esta doença, promovendo uma abordagem mais proativa e precisa. Embora existam desafios associados à implementação, os benefícios superam claramente as dificuldades, prometendo melhorar significativamente o bem-estar animal e a eficácia no manejo desta doença. Este avanço tecnológico não só facilita o estadiamento e controlo da asma equina, como também redefine o papel da medicina veterinária na era digital.

## **2.4 Métodos de estadiamento**

### **2.4.1 HOARSI**

Um dos projetos que serviu de base a esta tese de mestrado é o artigo intitulado "*Relationship of horse owner assessed respiratory signs index to characteristics of recurrent airway obstruction in two Warmblood families*", conduzido por Laumen et al. 2010. Este estudo teve como objetivo categorizar cavalos com base nos sinais respiratórios reportados pelos proprietários criando o índice HOARSI (Horse Owner Assessed Respiratory Signs Index). Os cavalos eram avaliados numa escala de 1 a 4 em que o grau 1 correspondia a animais saudáveis e o grau 4 correspondia a animais com SEA. Mais tarde os animais de estadio 3 ou 4 podiam ser identificado como estando em remissão clínica ou em exacerbação dos sintomas. Foi ainda estudada a existência de diferenças fenotípicas entre duas famílias de cavalos Warmblood descendentes de reprodutores afetados por SEA.

Como tal, os animais foram alvo de um exame clínico detalhado que incluía a identificação da frequência respiratória, tosse e presença de secreção nasal, uma avaliação endoscópica para identificar a presença e quantidade de muco nas vias aéreas e ainda uma análise citológica do fluido broncoalveolar e da secreção traqueobrônquica. A sensibilidade da vias aéreas também foi avaliada com um teste de provocação com metacolina.

Relativamente ao questionário propriamente dito os proprietários tinham como função avaliar e reportar episódios de tosse, qual a sua frequência e intensidade, se ocorria esforço abdominal à respiração, se havia dilatação das narinas e/ou descarga nasal, se foi possível identificar alterações de performance e há quanto tempo é que os animais apresentavam este quadro de sintomas.

As principais conclusões do estudo basearam-se na eficácia e praticabilidade do método HOARSI para estadiamento da asma ainda que tenha algumas limitações no que toca a diferenciar animais que se encontram entre o grau 1 e 2 da doença.

### **2.4.2 Tilley**

O outro artigo que serviu como base para a nossa análise foi "*Correlation and discriminant analysis between clinical, endoscopic, thoracic X-ray and bronchoalveolar lavage fluid cytology scores, for staging horses with recurrent airway obstruction (RAO)*", de (Tilley, J.P. Sales Luis, et al. 2012). Este artigo apresenta uma análise detalhada sobre a utilização de diferentes métodos para avaliar e estadiar a SEA que inclui fatores como por exame físico, endoscopia, raios x torácicos e lavagem broncoalveolar atribuindo-lhes uma pontuação individual e posteriormente avaliar quais aqueles que parecem estar mais relacionados com a gravidade dos sintomas.

O exame clínico pretende identificar episódios de tosse, de esforço abdominal, dilatação de narinas, intolerância ao exercício, secreção nasal, frequência respiratória e classificar a auscultação pulmonar. Já a endoscopia tem como objetivo a avaliação do muco, a sua cor, viscosidade e localização na árvore respiratória. As radiografias torácicas pretendem analisar padrões intersticiais, a radiopacidade brônquica e se existe espessamento das vias respiratórias. Por sua vez a citologia do BALF quantifica a percentagem de neutrófilos e eosinófilos.

O estadio 0 foi atribuído a animais saudáveis enquanto que os estadios de 1 a 4 identificavam animais doentes sendo que estadios mais altos significavam maior gravidade de doença e de sintomatologia. A classificação final atribuída era uma combinação de todas as outras pontuações individuais.

As variáveis como tosse, dilatação das narinas, esforço abdominal, acumulação de muco, padrões radiográficos e percentagem de neutrófilos mostraram correlação significativa (coeficiente > 0.60) com os estadios de doença, por outro lado, variáveis como intolerância ao exercício, secreção nasal e frequência respiratória não foram estatisticamente relevantes.

### **2.4.3 Outros métodos de estadiamento**

Como podemos observar, existem inúmeros métodos para estadiar a asma equina, quer seja pela vertente clínica quer por base de questionários aos donos. Estes métodos diferem em termos de complexidade, uns oferecem avaliações rápidas com base em sinais clínicos observáveis, enquanto outros fornecem avaliações mais detalhadas da progressão da doença ao longo do tempo.

Gerber et al. 2011 utilizou um método de classificação que tinha em conta uma avaliação clínica e também um questionário direcionado aos proprietários. A avaliação clínica incluía um exame físico, radiografias torácicas, exame endoscópico, citologia de fluido de lavagem broncoalveolar (BALF) e amostras de sangue arterial para medir as concentrações dos gases sanguíneos e também o pH, método este que se assemelha ao descrito por (Tilley, J.P. Sales Luis, et al. 2012). O questionário aplicado aos proprietários abordava fatores como

há quanto tempo eram proprietários do animal, conhecimento do historial de saúde do cavalo, o seu fim (lazer, desporto), problema principal e duração da queixa. Esta abordagem apresenta semelhanças com o sistema HOARSI.

O sistema de pontuação no estudo de Gerber et al. 2011 categorizou a condição clínica dos cavalos como 'Fraca' (Pontuação 0), 'Minimamente aceitável' (Pontuação 50) e 'Excelente' (Pontuação 100). Sinais clínicos como esforço respiratório aumentado, tosse e secreção nasal foram avaliados como 'nunca' (Pontuação 0), 'ocasional após trabalho ou alimentação' (Pontuação 50), e 'severa e permanente' (Pontuação 100). O muco observado durante o exame endoscópico foi pontuado numa escala de 0 a 5. O estudo concluiu que a escala visual analógica (VAS) era mais valiosa do que observações clínicas, citológicas e endoscópicas realizadas em exames breves por veterinários.

Young et al. 1997 desenvolveram um sistema de pontuação de 0 a 25, com base em sinais clínicos, histórico, muco (quantidade, qualidade e celularidade) e exame citológico de amostras de BAL. Cavalos saudáveis apresentaram pontuações clínicas de 2 ou menos, enquanto que os que possuíam inflamação das vias aéreas tiveram pontuações mais altas, e também apresentavam sinais clínicos moderados. Cavalos com condições graves obtiveram pontuações de aproximadamente 12.

Nogradi et al. 2015 desenvolveram um sistema de pontuação de 0 a 21 baseado em frequência respiratória, esforço respiratório, secreção nasal, tosse e sons pulmonares anormais, além de um sistema mais curto (2-8) baseado na respiração abdominal e no adejo nasal.

Alguns estudos, como os de Youssef et al. 2013), simplesmente dividiram os cavalos em dois grupos – agudos e crónicos. Por outro lado, Moor et al. 1996 incluíram hiperplasia linfóide faríngea como parâmetro no seu método de classificação, o que é incomum e raramente utilizado em estudos mais recentes. Venugopal et al. 2010 usaram uma equação para estabelecer a pontuação clínica com base em variáveis como dilatação das narinas e levantamento abdominal.

Hotchkiss et al. 2006 desenvolveram um questionário de triagem de risco para a forma grave de asma, composto por 55 critérios avaliados numa escala de 7 pontos, variando de 0 a 100. O questionário tinha duas secções: histórico e sinais clínicos, apresentando semelhanças com o sistema HOARSI. Este método mostrou ser eficaz discriminando cavalos com e sem a doença, com uma sensibilidade de 83% e especificidade de 85%.

Khol-Parisini et al. 2007 estabeleceram que os pacientes deveriam ter pelo menos 2 de 3 critérios para serem incluídos no estudo: uma alteração máxima na pressão intrapleural superior a 15 cm H<sub>2</sub>O, uma proporção de neutrófilos no BALF superior a 25%, e um aumento na resistência pulmonar de pelo menos 75% ou uma redução na complacência dinâmica de pelo menos 35% após uma dose de histamina inferior a 6 mg/mL.

Gehlen et al. 2008 utilizaram parâmetros de classificação que incluíam o historial do paciente, auscultação pulmonar clínica, análise de gases arteriais, exame endoscópico, avaliação citológica de secreções traqueobrônquicas ou BALF e exame radiográfico. Um exame muscular e biópsia também foram realizados para fins específicos de investigação. Os achados pulmonares foram então pontuados, e os cavalos foram categorizados em quatro grupos: saudáveis, leves, moderados e graves.

Já Simões et al. 2019<sup>a</sup> estipulou como objetivo desenvolver um método de classificação que pudesse ser aplicado a campo, proporcionando uma alternativa aos métodos tradicionais que dependem de equipamentos que estão mais presentes em ambiente hospitalar. A bateria de testes realizados incluiu o exame clínico, análise de gasometria arterial, medição da pressão pleural, broncoprovocação com histamina e análise citológica do líquido de lavagem broncoalveolar.

Os resultados demonstraram que o modelo desenvolvido foi altamente eficaz, explicando 99,3% da variabilidade nos dados e classificando corretamente 94,7% dos casos. Os parâmetros mais significativos para a classificação incluíram o *score* clínico, a percentagem de neutrófilos no BALF, a pressão pleural diferencial, a pressão parcial de oxigénio e a concentração máxima de histamina tolerada. A integração destes fatores permitiu desenvolver uma equação que nos indica a pontuação clínica do caso.

Ramseyer et al. 2007, Gy et al. 2019 e Rettmer et al. 2015 utilizaram o questionário HOARSI como método de classificação nos seus estudos.

## **2.5 Tratamento da Asma Equina: Abordagens Integradas para Maneio e Controlo**

O tratamento da asma equina visa controlar os sintomas, reduzir a inflamação e melhorar a qualidade de vida dos cavalos afetados. Este processo envolve modificações ambientais, terapias farmacológicas e intervenções físicas, adaptadas às necessidades específicas de cada animal. Além disso, avanços na compreensão da patologia e no desenvolvimento de tratamentos proporcionaram novas opções para o maneio eficaz da asma equina.

### **2.5.1 Modificações Ambientais**

A base do maneio da asma equina está na minimização da exposição a alérgenos ambientais que desencadeiam crises respiratórias. Recomenda-se o uso de feno molhado que reduz significativamente a quantidade de partículas inaláveis, melhorando a saúde respiratória dos cavalos (R S Pirie 2014; Couetil et al. 2020), o feno seco deve ser evitado.

Além disso, a escolha da cama é crucial, a palha, conhecida pela sua alta carga de partículas de pó, deve ser substituída por aparas embaladas ou outros materiais semelhantes.

Sempre que possível, cavalos asmáticos devem ser mantidos ao ar livre em paddock (Leclere et al. 2011). Esses ajustes ambientais, embora básicos, são fundamentais para prevenir exacerbações e melhorar a resposta ao tratamento farmacológico.

### **2.5.2 Terapias Farmacológicas**

As terapias farmacológicas são o pilar do tratamento da asma equina, especialmente em casos moderados a graves. Os medicamentos utilizados incluem anti-inflamatórios corticosteroides, broncodilatadores e expectorantes, administrados por via sistêmica ou inalatória, dependendo da gravidade do caso e da resposta esperada. Os corticosteroides desempenham um papel central no controle da inflamação das vias aéreas. A sua administração pode ser feita de forma sistêmica, utilizando medicamentos como prednisolona e dexametasona, que proporcionam um alívio rápido da inflamação em casos graves (Couëtil et al. 2016b), no entanto é de notar que o uso prolongado de corticosteroides sistêmicos apresenta riscos, incluindo supressão adrenal e aumento da probabilidade de laminites (Mora Pereira et al. 2018). A dexametasona, administrada por via oral, intravenosa ou intramuscular, é eficaz na redução da inflamação e na melhoria da função pulmonar. Estudos indicam que doses de 0,04-0,1 mg/kg por dia resultam em alívio significativo, especialmente em cavalos com obstrução severa das vias aéreas (Leclere et al. 2011). Prednisolona, comumente administrada por via oral em doses de 1-2 mg/kg por dia, também apresenta bons resultados, embora seja considerada menos eficaz do que a dexametasona em termos de rapidez na recuperação pulmonar (Leclere et al. 2011).

Alternativamente, corticosteroides inalatórios como ciclesonida, fluticasona, budesonida e beclometasona são preferidos para uso prolongado, devido ao seu efeito localizado e menor risco de efeitos secundários sistêmicos (Klier et al. 2022). A fluticasona (2000-6000 µg duas vezes ao dia) tem mostrado melhorar significativamente a função pulmonar e é frequentemente usada em terapias de manutenção (Dauvillier et al. 2011). Beclometasona, administrada em doses de 500-3750 µg duas vezes ao dia, também é eficaz, particularmente quando combinada com gestão ambiental (Ivester et al. 2014).

A broncoconstrição, uma característica marcada da asma equina, é tratada com broncodilatadores. Esses medicamentos ajudam a relaxar os músculos das vias aéreas, facilitando a respiração. Broncodilatadores sistêmicos, como clenbuterol e butilescolamina, são úteis em casos agudos, enquanto broncodilatadores inalatórios como o salbutamol, salmeterol e brometo de ipratrópio, oferecem alívio rápido e direcionado para as vias aéreas inferiores (Leclere et al. 2011). O clenbuterol é o broncodilatador sistêmico mais usado, com doses de 0,8-3,2 µg/kg por via oral ou intravenosa. Além de aliviar a broncoconstrição, melhora a depuração mucociliar e apresenta efeitos anti-inflamatórios (Laan et al. 2006). Para melhorar a liquefação e o transporte de muco acumulado nas vias aéreas, são frequentemente utilizados expectorantes como dembrexina e acetilcisteína. Soluções salinas,

isotónicas ou hipertónicas, administradas por inalação, também desempenham um papel importante no amolecimento do muco, facilitando a sua eliminação e reduzindo a obstrução das vias aéreas(R S Pirie 2014).

### **2.5.3 Considerações Adicionais no Tratamento**

Além do manejo ambiental e farmacológico, o exercício físico moderado desempenha um papel complementar no tratamento da asma equina. O movimento ajuda a mobilizar secreções acumuladas e melhora a ventilação pulmonar, promovendo uma maior eficácia respiratória. Contudo, deve ser introduzido com cautela, especialmente em cavalos com asma grave, para evitar exacerbações. O acompanhamento veterinário é essencial para ajustar o nível de atividade ao estado clínico do cavalo (Couetil et al. 2020).

Embora a administração de antimicrobianos não seja recomendada de forma rotineira, pode ser necessária em casos de infeções bacterianas secundárias. Estes casos são confirmados por meio de culturas bacterianas e exames citológicos do lavado broncoalveolar. Além disso, é fundamental evitar mudanças abruptas na dieta e no manejo(Couëttil et al. 2016b).

### **2.5.4 Perspetivas Futuras e Terapias Avançadas**

O tratamento da asma equina está a evoluir com o avanço das terapias direcionadas e da tecnologia. Estudos recentes exploram o uso de terapias biológicas, como anticorpos monoclonais, para modular respostas inflamatórias específicas (Klier et al. 2022).

O uso de anticorpos monoclonais (mAbs) está a ganhar terreno como uma abordagem inovadora e promissora no tratamento da asma equina. Este tipo de terapia baseia-se na utilização de moléculas altamente específicas, concebidas para reconhecer e neutralizar alvos específicos do sistema imunitário que contribuem para a inflamação crónica e para a remodelação das vias aéreas.

Os anticorpos monoclonais desenvolvidos para a asma equina atuam de várias formas: pelo bloqueio de citocinas específicas, neutralizam moléculas como a IL-5, reduzindo o recrutamento de eosinófilos para as vias respiratórias, pela inibição dos recetores das citocinas e pela modulação da atividade do TNF- $\alpha$  cuja neutralização pode reduzir significativamente o dano tecidual nas vias aéreas (Klier et al. 2022).

Deste modo os anticorpos monoclonais reduzem a inflamação de forma eficaz e direcionada aos mecanismos em causa (R S Pirie 2014) diminui a dependência de corticosteroides permitindo uma gestão da medicação mais segura a longo prazo (Couetil et al. 2020) e por fim personaliza o tratamento adaptando-se aos fenótipos específicos (Klier et al. 2022).

Esta nova abordagem terapêutica apresenta alguma limitações tais como o custo, é naturalmente uma terapia de valor elevado (Klier et al. 2022) a necessidade de um diagnóstico

preciso algo que por vezes não é fácil de atingir (Couetil et al. 2020), e a duração do efeito terapêutico é limitado e exige várias administrações (R S Pirie 2014).

Por outro lado, a integração de inteligência artificial no monitoramento da saúde respiratória dos cavalos representa uma fronteira emergente, oferecendo novas ferramentas para o diagnóstico precoce e o controle personalizado.

## 2.6 Bibliografia

Abraham G, Kottke C, Dhein S, Ungemach FR. 2006. Agonist-independent alteration in  $\beta$ -adrenoceptor-G-protein-adenylate cyclase system in an equine model of recurrent airway obstruction. *Pulm Pharmacol Ther.* 19(3):218–229. doi:10.1016/j.pupt.2005.05.007.

Barton AK, Gehlen H. 2016. Pulmonary Remodeling in Equine Asthma: What Do We Know about Mediators of Inflammation in the Horse? *Mediators Inflamm.* 2016:5693205. doi:10.1155/2016/5693205.

Bedenice D, Mazan MR, Hoffman AM. 2008. Association between Cough and Cytology of Bronchoalveolar Lavage Fluid and Pulmonary Function in Horses Diagnosed with Inflammatory Airway Disease. *J Vet Intern Med.* 22(4):1022–1028. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0109.x.

Bruijnzeel PLB, Uddin M, Koenderman L. 2015. Targeting neutrophilic inflammation in severe neutrophilic asthma: can we target the disease-relevant neutrophil phenotype? *J Leukoc Biol.* 98(4):549–556. doi:10.1189/jlb.3VMR1214-600RR.

Bullone M, Lavoie J-P. 2020. The equine asthma model of airway remodeling: from a veterinary to a human perspective. *Cell Tissue Res.* 380(2):223–236. doi:10.1007/s00441-019-03117-4.

Chevalier H, Divers TJ. 2003. Pulmonary dysfunction in adult horses in the intensive care unit. *Clinical Techniques in Equine Practice.* 2(2):165–177. doi:10.1016/S1534-7516(03)00011-8.

Clarke AF. 1987. A review of environmental and host factors in relation to equine respiratory disease. *Equine Vet J.* 19(5):435–441. doi:10.1111/j.2042-3306.1987.tb02638.x.

Clements JM, Pirie RS. 2007. Respirable dust concentrations in equine stables. Part 2: the benefits of soaking hay and optimising the environment in a neighbouring stable. *Res Vet Sci.* 83(2):263–8. doi:10.1016/j.rvsc.2006.12.003.

Cordeau M-E, Joubert P, Dewachi O, Hamid Q, Lavoie J-P. 2004a. IL-4, IL-5 and IFN- $\gamma$  mRNA expression in pulmonary lymphocytes in equine heaves. *Vet Immunol Immunopathol.* 97(1–2):87–96. doi:10.1016/j.vetimm.2003.08.013.

Cordeau M-E, Joubert P, Dewachi O, Hamid Q, Lavoie J-P. 2004b. IL-4, IL-5 and IFN- $\gamma$  mRNA expression in pulmonary lymphocytes in equine heaves. *Vet Immunol Immunopathol.* 97(1–2):87–96. doi:10.1016/j.vetimm.2003.08.013.

Costa LRR, Johnson JR, Baur ME, Beadle RE. 2006. Temporal clinical exacerbation of summer pasture-associated recurrent airway obstruction and relationship with climate and aeroallergens in horses. *Am J Vet Res.* 67(9):1635–1642. doi:10.2460/ajvr.67.9.1635.

Costa LRR, Seahorn TL, Moore RM, Taylor HW, Gaunt SD, Beadle RE. 2000. Correlation of clinical score, intrapleural pressure, cytologic findings of bronchoalveolar fluid, and histopathologic lesions of pulmonary tissue in horses with summer pasture-associated obstructive pulmonary disease. *Am J Vet Res.* 61(2):167–173. doi:10.2460/ajvr.2000.61.167.

Couetil L, Cardwell JM, Leguillette R, Mazan M, Richard E, Bienzle D, Bullone M, Gerber V, Ivester K, Lavoie J-P, et al. 2020. Equine Asthma: Current Understanding and Future Directions. *Front Vet Sci.* 7:450. doi:10.3389/fvets.2020.00450.

Couëtill LL, Art T, de Moffarts B, Becker M, Mélotte D, Jaspar F, Bureau F, Lekeux P. 2006. Effect of beclomethasone dipropionate and dexamethasone isonicotinate on lung

function, bronchoalveolar lavage fluid cytology, and transcription factor expression in airways of horses with recurrent airway obstruction. *J Vet Intern Med.* 20(2):399–406. doi:10.1892/0891-6640(2006)20[399:eobdad]2.0.co;2.

Couëtil LL, Cardwell JM, Gerber V, Lavoie JP, Léguillette R, Richard EA. 2016a. Inflammatory Airway Disease of Horses-Revised Consensus Statement. *J Vet Intern Med.* 30(2):503–515. doi:10.1111/jvim.13824.

Couëtil LL, Cardwell JM, Gerber V, Lavoie JP, Léguillette R, Richard EA. 2016b. Inflammatory Airway Disease of Horses-Revised Consensus Statement. *J Vet Intern Med.* 30(2):503–515. doi:10.1111/jvim.13824.

Couëtil LL, Cardwell JM, Gerber V, Lavoie JP, Léguillette R, Richard EA. 2016c. Inflammatory Airway Disease of Horses-Revised Consensus Statement. *J Vet Intern Med.* 30(2):503–515. doi:10.1111/jvim.13824.

Couëtil LL, Hawkins JF. 2013. *Respiratory Diseases of the Horse. A problem-oriented approach to diagnosis & management.* London, UK: Manson Publishing Ltd. .

Dauvillier J, Felipe MJB, Lunn DP, Lavoie-Lamoureux A, Leclère M, Beauchamp G, Lavoie J -P. 2011. Effect of Long-Term Fluticasone Treatment on Immune Function in Horses with Heaves. *J Vet Intern Med.* 25(3):549–557. doi:10.1111/j.1939-1676.2011.0717.x.

Deaton CM. 2006. The role of oxidative stress in an equine model of human asthma. *Redox Rep.* 11(2):46–52. doi:10.1179/135100006X101057.

Debrue M, Hamilton E, Joubert P, Lajoie-Kadoch S, Lavoie J-P. 2005. Chronic exacerbation of equine heaves is associated with an increased expression of interleukin-17 mRNA in bronchoalveolar lavage cells. *Vet Immunol Immunopathol.* 105(1–2):25–31. doi:10.1016/j.vetimm.2004.12.013.

Derksen FJ, Slocombe RF, Brown CM, Rook J, Robinson NE. 1982. Chronic restrictive pulmonary disease in a horse. *J Am Vet Med Assoc.* 180(8):887–889. doi:10.2460/javma.1982.180.08.887.

Dixon CE, Bedenice D, Mazan MR. 2021. Comparison of Flowmetric Plethysmography and Forced Oscillatory Mechanics to Measure Airway Hyperresponsiveness in Horses. *Front Vet Sci.* 7. doi:10.3389/fvets.2020.511023.

FAIRBAIRN SM, LEES P, PAGE CP, CUNNINGHAM FM. 1993. Duration of antigen-induced hyperresponsiveness in horses with allergic respiratory disease and possible links with early airway obstruction. *J Vet Pharmacol Ther.* 16(4):469–476. doi:10.1111/j.1365-2885.1993.tb00213.x.

Ferrari CR, Cooley J, Mujahid N, Costa LR, Wills RW, Johnson ME, Swiderski CE. 2018. Horses With Pasture Asthma Have Airway Remodeling That Is Characteristic of Human Asthma. *Vet Pathol.* 55(1):144–158. doi:10.1177/0300985817741729.

Ferro E, Ferrucci F, Zucca E, Di Fabio V, Castoldi S. 2002. Arterial blood gas analysis in 53 racehorses with a diagnosis of Small Airway Inflammatory Disease (SAID). *J Equine Vet Sci.* 22(4):165–168. doi:10.1016/S0737-0806(02)70142-1.

Gehlen H, Oey L, Rohn K, Bilzer T, Stadler P. 2008. Pulmonary Dysfunction and Skeletal Muscle Changes in Horses with RAO. *J Vet Intern Med.* 22(4):1014–1021. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0111.x.

Gerber V, Baleri D, Klukowska-Rötzler J, Swinburne JE, Dolf G. 2009. Mixed inheritance of equine recurrent airway obstruction. *J Vet Intern Med.* 23(3):626–630. doi:10.1111/j.1939-1676.2009.0292.x.

GERBER V, SCHOTT II HC, ROBINSON NE. 2011. Owner assessment in judging the efficacy of airway disease treatment. *Equine Vet J.* 43(2):153–158. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00156.x.

Gy C, Leclere M, Vargas A, Grimes C, Lavoie J. 2019. Investigation of blood biomarkers for the diagnosis of mild to moderate asthma in horses. *J Vet Intern Med.* 33(4):1789–1795. doi:10.1111/jvim.15505.

Hoffman A, Kuehn H, Riedelberger K, Kupcinskas R, Miskovic MB. 2001. Flowmetric comparison of respiratory inductance plethysmography and pneumotachography in horses. *J Appl Physiol.* 91(6):2767–2775. doi:10.1152/jappl.2001.91.6.2767.

Hoffman AM. 1999. Bronchoalveolar lavage technique and cytological diagnosis of small airway inflammatory disease. In: *Equine Veterinary Education.* p. 330–360.

Hoffman AM. 2008. Bronchoalveolar lavage: sampling technique and guidelines for cytologic preparation and interpretation. In: *Veterinary Clinics of North America – Equine Practice.* p. 423–435.

Hotchkiss JW, Reid SW, Christley R. 2006. Construction and validation of a risk-screening questionnaire for the investigation of recurrent airway obstruction in epidemiological studies of horse populations in Great Britain. *Prev Vet Med.* 75(1–2):8–21. doi:10.1016/j.prevetmed.2006.01.001.

Hotchkiss JW RS, Christley R. 2007. A survey of horse owners in Great Britain regarding horses in their care. Part 2: Risk factors for recurrent airway obstruction.

Ingelheim. 2024 Sep 2. New collaboration between Boehringer Ingelheim and Sleip leverages AI-technology to help detect lameness in horses. [accessed 2025 Jan 8]. <https://www.boehringer-ingelheim.com/animal-health/companion-animals-horses/horses/lameness-horses-collaboration-sleip-app-artificial-intelligence>.

Irizarry R, Reiss A. 2009. Arterial and venous blood gases: indications, interpretations, and clinical applications. *Compend Contin Educ Vet.* 31(10):E1-7; quiz E7.

Ivester KM, Couëtil LL, Moore GE, Zimmerman NJ, Raskin RE. 2014. Environmental exposures and airway inflammation in young thoroughbred horses. *J Vet Intern Med.* 28(3):918–24. doi:10.1111/jvim.12333.

Jean D, Vrins A, Beauchamp G, Lavoie J-P. 2011. Evaluation of variations in bronchoalveolar lavage fluid in horses with recurrent airway obstruction. *Am J Vet Res.* 72(6):838–842. doi:10.2460/ajvr.72.6.838.

Khol-Parisini A, van den Hoven R, Leinker S, Hulan HW, Zentek J. 2007. Effects of feeding sunflower oil or seal blubber oil to horses with recurrent airway obstruction. *Can J Vet Res.* 71(1):59–65.

Klier J, Fuchs S, Winter G, Gehlen H. 2022. Inhalative Nanoparticulate CpG Immunotherapy in Severe Equine Asthma: An Innovative Therapeutic Concept and Potential Animal Model for Human Asthma Treatment. *Animals.* 12(16):2087. doi:10.3390/ani12162087.

Kozłowska N, Wierzbicka M, Jasiński T, Domino M. 2022. Advances in the Diagnosis of Equine Respiratory Diseases: A Review of Novel Imaging and Functional Techniques. *Animals.* 12(3):381. doi:10.3390/ani12030381.

Laan TTJM, Bull S, Nieuwstadt RA van, Fink-Gremmels J. 2006. The Effect of Aerosolized and Intravenously Administered Clenbuterol and Aerosolized Fluticasone Propionate on Horses Challenged with *Aspergillus fumigatus* Antigen. *Vet Res Commun.* 30(6):623–635. doi:10.1007/s11259-006-3346-9.

LAUMEN E, DOHERR MG, GERBER V. 2010. Relationship of horse owner assessed respiratory signs index to characteristics of recurrent airway obstruction in two Warmblood families. *Equine Vet J.* 42(2):142–148. doi:10.2746/042516409X479586.

Leclere M, Lavoie-Lamoureux A, Joubert P, Relave F, Setlakwe EL, Beauchamp G, Couture C, Martin JG, Lavoie J-P. 2012. Corticosteroids and antigen avoidance decrease airway smooth muscle mass in an equine asthma model. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 47(5):589–96. doi:10.1165/rcmb.2011-0363OC.

LECLERE M, LAVOIE-LAMOUREUX A, LAVOIE J. 2011. Heaves, an asthma-like disease of horses. *Respirology.* 16(7):1027–1046. doi:10.1111/j.1440-1843.2011.02033.x.

Leclere M, Lavoie-Lamoureux A, Lavoie JP. 2011. Heaves, an asthma-like disease of horses. *Respirology.* 16(7):1027–1046. doi:10.1111/j.1440-1843.2011.02033.x.

Lederhouse C. 2023 Apr. Artificial intelligence in veterinary medicine: What are the ethical and legal implications? [accessed 2025 Jan 8]. <https://www.avma.org/news/artificial-intelligence-veterinary-medicine-what-are-ethical-and-legal-implications>.

Léguillette R. 2003. Recurrent airway obstruction—heaves. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 19(1):63–86. doi:10.1016/S0749-0739(02)00067-6.

Léguillette R, Lavoie J-P. 2006. Effects of the bronchoalveolar lavage procedure on lung function in horses with clinical exacerbation of recurrent airway obstruction. *Am J Vet Res*. 67(11):1929–1933. doi:10.2460/ajvr.67.11.1929.

Mazan MR, Hoffman AM. 2003. Clinical techniques for diagnosis of inflammatory airway disease in the horse. *Clinical Techniques in Equine Practice*. 2(3):238–257. doi:10.1053/S1534-7516(03)00067-2.

Mazan MR, Hoffman AM, Manjerovic N. 1999. Comparison of forced oscillation with the conventional method for histamine bronchoprovocation testing in horses. *Am J Vet Res*. 60(2):174–80.

McGorum BC, Ellison J, Cullen RT. 1998. Total and respirable airborne dust endotoxin concentrations in three equine management systems. *Equine Vet J*. 30(5):430–4. doi:10.1111/j.2042-3306.1998.tb04514.x.

Meiseberg LK, Delarocque J, de Buhr N, Ohnesorge B. 2024. Clinical variability of equine asthma phenotypes and analysis of diagnostic steps in phenotype differentiation. *Acta Vet Scand*. 66(1):51. doi:10.1186/s13028-024-00773-7.

Miskovic M, Couëtil LL, Thompson CA. 2007. Lung function and airway cytologic profiles in horses with recurrent airway obstruction maintained in low-dust environments. *J Vet Intern Med*. 21(5):1060–6. doi:10.1892/0891-6640(2007)21[1060:lfaacp]2.0.co;2.

Moor BR, Krakowka S, Cummins JM, Robertson JT. 1996. Changes in airway inflammatory cell populations in Standardbred racehorses after interferon-alpha administration. *Vet Immunol Immunopathol*. 49(4):347–358. doi:10.1016/0165-2427(95)05480-4.

Mora Pereira M, Groover E, Wooldridge A, Caldwell F. 2018. Review of glucocorticoid therapy in horses. Part 2: Clinical use of systemic glucocorticoids in horses. *Equine Vet Educ*. 30(4):213–224. doi:10.1111/eve.12624.

Murcia RY, Vargas A, Lavoie J-P. 2016. The Interleukin-17 Induced Activation and Increased Survival of Equine Neutrophils Is Insensitive to Glucocorticoids. *PLoS One*. 11(5):e0154755. doi:10.1371/journal.pone.0154755.

Nogradi N, Couetil LL, Messick J, Stochelski MA, Burgess JR. 2015. Omega-3 fatty acid supplementation provides an additional benefit to a low-dust diet in the management of horses with chronic lower airway inflammatory disease. *J Vet Intern Med*. 29(1):299–306. doi:10.1111/jvim.12488.

Nolen-Walston RD, Kuehn H, Boston RC, Mazan MR, Wilkins PA, Bruns S, Hoffman AM. 2009a. Reproducibility of Airway Responsiveness in Horses Using Flowmetric Plethysmography and Histamine Bronchoprovocation. *J Vet Intern Med*. 23(3):631–635. doi:10.1111/j.1939-1676.2009.0307.x.

Nolen-Walston RD, Kuehn H, Boston RC, Mazan MR, Wilkins PA, Bruns S, Hoffman AM. 2009b. Reproducibility of Airway Responsiveness in Horses Using Flowmetric Plethysmography and Histamine Bronchoprovocation. *J Vet Intern Med*. 23(3):631–635. doi:10.1111/j.1939-1676.2009.0307.x.

Nolen-Walston RD, Kuehn H, Boston RC, Mazan MR, Wilkins PA, Bruns S, Hoffman AM. 2009c. Reproducibility of Airway Responsiveness in Horses Using Flowmetric Plethysmography and Histamine Bronchoprovocation. *J Vet Intern Med*. 23(3):631–635. doi:10.1111/j.1939-1676.2009.0307.x.

Pacholewska A, Kraft MF, Gerber V, Jagannathan V. 2017. Differential Expression of Serum MicroRNAs Supports CD4<sup>+</sup> T Cell Differentiation into Th2/Th17 Cells in Severe Equine Asthma. *Genes (Basel)*. 8(12). doi:10.3390/genes8120383.

- Picandet V, Jeanneret S, Lavoie J-P. 2007. Effects of syringe type and storage temperature on results of blood gas analysis in arterial blood of horses.
- Pirie R S. 2014. Recurrent airway obstruction: a review. *Equine Vet J.* 46(3):276–88. doi:10.1111/evj.12204.
- Pirie R. S. 2014. Recurrent airway obstruction: A review. *Equine Vet J.* 46(3):276–288. doi:10.1111/evj.12204.
- Ramseyer A, Gaillard C, Burger D, Straub R, Jost U, Boog C, Marti E, Gerber V. 2007. Effects of Genetic and Environmental Factors on Chronic Lower Airway Disease in Horses. *J Vet Intern Med.* 21(1):149–156. doi:10.1111/j.1939-1676.2007.tb02941.x.
- Rettmer H, Hoffman AM, Lanz S, Oertly M, Gerber V. 2015a. Owner-reported coughing and nasal discharge are associated with clinical findings, arterial oxygen tension, mucus score and bronchoprovocation in horses with recurrent airway obstruction in a field setting. *Equine Vet J.* 47(3):291–295. doi:10.1111/evj.12286.
- Rettmer H, Hoffman AM, Lanz S, Oertly M, Gerber V. 2015b. Owner-reported coughing and nasal discharge are associated with clinical findings, arterial oxygen tension, mucus score and bronchoprovocation in horses with recurrent airway obstruction in a field setting. *Equine Vet J.* 47(3):291–295. doi:10.1111/evj.12286.
- Robinson NE, Derksen FJ, Jackson CA, Peroni D, Gerber V. 2001. Management of heaves. *Equine Vet Educ.* 13(5):247–259. doi:10.1111/j.2042-3292.2001.tb00104.x.
- Robinson NE, Olszewski MA, Boehler D, Berney C, Hakala J, Matson C, Derksen FJ. 2000. Relationship between clinical signs and lung function in horses with recurrent airway obstruction (heaves) during a bronchodilator trial. *Equine Vet J.* 32(5):393–400. doi:10.2746/042516400777591147.
- Sánchez A, Couëtil LL, Ward MP, Clark SP. 2005. Effect of Airway Disease on Blood Gas Exchange in Racehorses. *J Vet Intern Med.* 19(1):87. doi:10.1892/0891-6640(2005)19<87:EOADOB>2.0.CO;2.
- Séguin V, Garon D, Lemauviel-Lavenant S, Lanier C, Bouchart V, Gallard Y, Blanchet B, Diquélou S, Personeni E, Ourry A. 2012. How to improve the hygienic quality of forages for horse feeding. *J Sci Food Agric.* 92(4):975–86. doi:10.1002/jsfa.4680.
- Simões J, Sales Luís J, Tilley P. 2019. Contribution of lung function tests to the staging of severe equine asthma syndrome in the field. *Res Vet Sci.* 123:112–117. doi:10.1016/j.rvsc.2018.12.014.
- Stopyra A, Sobiech P, Waclawska-Matyjasik A. 2012a. Acid-base indicators in the venous and arterial blood of horses affected by recurrent airway obstruction (RAO). *Pol J Vet Sci.* 15(3):463–467. doi:10.2478/v10181-012-0071-x.
- Stopyra A, Sobiech P, Waclawska-Matyjasik A. 2012b. Acid-base indicators in the venous and arterial blood of horses affected by recurrent airway obstruction (RAO). *Pol J Vet Sci.* 15(3). doi:10.2478/v10181-012-0071-x.
- Tilley P, Sales Luis J.P., Branco Ferreira M. 2012. Correlation and discriminant analysis between clinical, endoscopic, thoracic X-ray and bronchoalveolar lavage fluid cytology scores, for staging horses with recurrent airway obstruction (RAO). *Res Vet Sci.* 93(2):1006–1014. doi:10.1016/j.rvsc.2011.10.024.
- Tilley P, Sales Luis J. P., Branco Ferreira M. 2012. Correlation and discriminant analysis between clinical, endoscopic, thoracic X-ray and bronchoalveolar lavage fluid cytology scores, for staging horses with recurrent airway obstruction (RAO). *Res Vet Sci.* 93(2):1006–1014. doi:10.1016/j.rvsc.2011.10.024.
- Venugopal CS, Mendes LCN, Peiró JR, Laborde SS, Stokes AM, Moore RM. 2010. Transcriptional changes associated with recurrent airway obstruction in affected and unaffected horses. *Am J Vet Res.* 71(4):476–482. doi:10.2460/ajvr.71.4.476.
- Wichtel M, Gomez D, Burton S, Wichtel J, Hoffman A. 2016. Relationships between equine airway reactivity measured by flowmetric plethysmography and specific indicators of

airway inflammation in horses with suspected inflammatory airway disease. *Equine Vet J.* 48(4):466–471. doi:10.1111/evj.12482.

Young SS, Tesarowski D, Viel L. 1997. Frequency dependence of forced oscillatory respiratory mechanics in horses with heaves. *J Appl Physiol.* 82(3):983–987. doi:10.1152/jappl.1997.82.3.983.

Youssef MA, El-khodery SA, Ibrahim HMM. 2013. Effect of Selenium and Vitamin C on Clinical Outcomes, Trace Element Status, and Antioxidant Enzyme Activity in Horses with Acute and Chronic Lower Airway Disease. A Randomized Clinical Trial. *Biol Trace Elem Res.* 152(3):333–342. doi:10.1007/s12011-013-9636-5.

### **3. Artigo científico**

## Article

# Evaluation of Two Distinct Methods for Staging Equine Asthma Against Gold Standards

Sara Santos <sup>1</sup>, Joana Simões <sup>2</sup>, José P. Sales Luís <sup>3</sup> and Paula Tilley <sup>4\*</sup>

- <sup>1</sup> CIISA - Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Av. Universidade Técnica, 1300-477 Lisbon, Portugal ; AL4AnimalS - Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences; [sara.santos1244@gmail.com](mailto:sara.santos1244@gmail.com)
  - <sup>2</sup> Veterinary and Animal Research Centre (CECAV), Faculty of Veterinary Medicine, Lusofona University, 376 Campo Grande, Lisbon, 1749-024, Portugal; [p5677@ulusofona.pt](mailto:p5677@ulusofona.pt)
  - <sup>3</sup> CIISA - Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Av. Universidade Técnica, 1300-477 Lisbon, Portugal ; AL4AnimalS - Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences; [jpluis@fmv.ulisboa.pt](mailto:jpluis@fmv.ulisboa.pt)
  - <sup>4</sup> CIISA - Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Av. Universidade Técnica, 1300-477 Lisbon, Portugal ; AL4AnimalS - Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences; [ptilley@fmv.ulisboa.pt](mailto:ptilley@fmv.ulisboa.pt)
- \* Correspondence: [ptilley@fmv.ulisboa.pt](mailto:ptilley@fmv.ulisboa.pt); Tel.: +351 962812549

**Simple Summary:** Equine asthma is a common and debilitating respiratory disease affecting horses worldwide. Diagnosing and monitoring the disease can be challenging, especially in field conditions. This study evaluated two staging methods: HOARSI, based on owner-reported symptoms, and TILLEY, which uses in-hospital veterinary exams and imaging. The aim was to determine their correlation and/or association with gold-standard parameters - Bronchoalveolar Lavage Fluid (BALF) neutrophil percentage and Lung Function parameters -. The results showed that both staging methods had strong correlations and/or associations with the gold-standard parameters tested, supporting their reliability for disease assessment, therefore reinforcing their use in clinical practice. These findings provide veterinarians and horse owners with a practical, non-invasive tool for asthma detection and monitoring, as well as a reliable in-hospital tool, enabling further characterization of the asthma stage. The use of both these staging methods supports veterinary decision-making in both field and hospital settings, more tailored treatment strategies, improved equine asthma management with response to treatment monitoring, therefore enhancing horse welfare and performance longevity.

**Citation:** To be added by editorial staff during production.

Academic Editor: First name  
Lastname

Received: date

Revised: date

Accepted: date

Published: date



**Copyright:** © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Equine asthma is one of the most prevalent non-infectious chronic respiratory disease presenting challenges for diagnosis and staging in both field and clinical settings. This study aimed to evaluate possible associations and/or correlations between two distinct clinical staging methods—the Horse Owner Assessed Respiratory Signs Index (HOARSI) and the Tilley et al, 2012, Staging Method (TILLEY) – and Gold Standards such as Bronchoalveolar Lavage Fluid (BALF) Cytology and some Lung Function parameters – arterial partial pressure of oxygen (PaO<sub>2</sub>), difference in pleural pressure ( $\Delta P_{pl}$ ), and histamine concentration (plethysmography with bronchoprovocation) –. Strong correlations were observed between cough frequency and HOARSI ( $\gamma = 0.935$ ), histamine concentration and TILLEY ( $\gamma = -0.927$ ), and BALF neutrophil percentage and HOARSI ( $\gamma = 0.924$ ).  $\Delta P_{pl}$  also showed significant associations with HOARSI ( $r = 0.677$ ) and TILLEY ( $r = 0.631$ ). These findings support the reliability of these methods for assessing disease severity. The complementary roles of HOARSI and TILLEY in equine asthma diagnosis and staging is also highlighted, the first as a screening method, particularly valuable in ambulatory practice, and the second as an in-hospital staging method, where more detailed examination and testing can be performed. Together, these tools can facilitate early diagnosis even in ambulatory conditions, enhance asthma staging accuracy, evaluate treatment response supporting a personalized treatment, and improve the welfare of affected horses.

**Keywords:** equine asthma; staging; HOARSI; TILLEY; clinical score; lung function tests; PaO<sub>2</sub>; pleural pressure; histamine concentration; BAL.

## 1. Introduction

Equine asthma (EA) has gained significant attention as one of the most extensively researched respiratory conditions worldwide. It is currently the most prevalent noninfectious, chronic, obstructive, inflammatory airway disease in developed nations across the northern hemisphere. This includes both its milder, moderate and more severe phenotypes [1]. However, diagnosing and staging this condition, whether in field settings or hospital environments, presents its own set of challenges.

Numerous scoring systems have been proposed to aid in the staging of equine asthma, combining clinical evaluations, owner questionnaires, and complementary diagnostic procedures. Staging is of utmost importance to evaluate asthma severity, to choose the treatment protocol, to assess treatment response, as well as for communication between researchers and clinicians.

Regarding clinical evaluations, some papers described clinical scores ranging from 1-5, focusing just on respiratory effort [2], or associating also auscultation data and cough [3]. Others describe 1-8 clinical scores, focusing only on respiratory effort [4], or adding auscultation and cough [5]. Nevertheless, one clinical score span from 1 to 12, involving respiratory effort, auscultation and cough [6]. A longer one [7], was presented as a clinical score covering a scale from 1 to 25, including respiratory effort, thoracic percussion, cough, respiratory rate and nasal discharge.

Some more comprehensive scoring methods have also been described, involving clinical data and complementary diagnostic procedures, with a scale of 1-12 [8] or 1-15 [9]. Another comprehensive score has been described for staging equine asthma in ambulatory practice [10]. Looking into one of these more comprehensive scoring methods in more detail, the TILLEY staging method [8], it involves a clinical examination, thoracic X-rays, respiratory endoscopy, and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) cytology. Horses are classified into one of five stages: stage 0 (no equine asthma), stage 1 (latent asthma), stage 2 (mild equine asthma), stage 3 (moderate equine asthma), and stage 4 (severe equine asthma).

Moreover, there are methods that attribute a score based on a clinical exam and a clinical history obtained from horse owners [11–13]. An example of this is the Horse Owner Assessed Respiratory Signs Index (HOARSI) [12], which is based on an owner questionnaire and prevalent clinical indicators like coughing, nasal discharge, breathing patterns, and performance. Horses are categorized on a scale of 1 to 4, with grade 1 assigned to historically healthy animals and grade 4 indicating severe disease.

On the other hand, various Gold Standards have been described for equine asthma diagnosis, such as BALF cytology and various lung function parameters, like arterial blood gases, difference in pleural pressure ( $\Delta P_{pl}$  - indirect measurement with an oesophageal balloon), plethysmography with bronchoprovocation to determine the maximum possible histamine concentration achieved, among others [14–16]

BALF cytology has become the preferred method for diagnosing and staging EA, offering a direct assessment of lower airway inflammation [14]. The procedure, conducted with a BAL catheter or endoscope, frequently identifies neutrophilia (>20%), reduced macrophages and lymphocytes, and mucus accumulation in affected horses [17,18]. While BALF cytology remains an essential tool for disease monitoring, it should be performed after lung function tests, as it can transiently improve pulmonary resistance by clearing mucus [19].

Pulmonary function assessment in EA has traditionally relied on lung mechanics, measuring pleural pressure changes ( $\Delta P_{pl}$ ) and airflow to evaluate airway resistance and breathing effort [20]. In severe EA, elevated  $\Delta P_{pl}$  values ( $>15$  cm H<sub>2</sub>O), increased pulmonary resistance (RL), and higher breathing effort indicate significant airway impairment [14,21]. While effective in assessing advanced cases, this method has limited sensitivity for detecting small airway obstruction and is often complemented by histamine or methacholine bronchoprovocation, which enhances sensitivity in identifying low-grade airway obstruction [22,23]. Another key diagnostic tool is arterial blood gases analysis, which evaluates gas exchange efficiency, alveolar ventilation, and acid-base balance [24,25]. Horses with severe EA typically show reduced arterial partial pressure of oxygen (PaO<sub>2</sub>) and oxygen saturation (sO<sub>2</sub>) levels and increased partial pressure of carbon dioxide (PaCO<sub>2</sub>), this being a frequent finding as the disease progresses [26,27]. However, arterial blood gases analysis lacks sensitivity for detecting mild cases and should be performed without sedation to prevent artificial changes in ventilation [28,29].

While several studies have explored various approaches to staging equine asthma, very few have looked into establishing statistical correlations and/or associations between the staging methods and one or more Gold Standards.

In the present study we evaluated the HOARSI and the TILLEY staging methods for equine asthma individually against the Gold Standard methods BALF cytology, PaO<sub>2</sub>,  $\Delta P_{pl}$  (indirect measurement with an oesophageal balloon), and maximum histamine concentration (plethysmography with bronchoprovocation). The primary objective of this study was to establish correlations and/or associations between these two distinct equine asthma staging methods and one or more Gold Standards in an effort to establish some statistical significance for these staging methods. We hypothesised that both staging methods would present significant correlations and associations with the gold standards.

## 2. Materials and Methods

### 2.1 Horses

Thirty eight horses aged between 8 and 23 years ( $13 \pm 4.3$  years in the SEAS group and  $14.9 \pm 4.8$  years in the Control group; no significant difference between the 2 groups,  $P = .15$ ;  $t$ -test; normal distribution -Shapiro-Wilk test-) were brought to the equine hospital, of the Faculty of Veterinary Medicine, where they were examined by two independent clinicians. Eighteen of these horses were referred for asthma diagnosis and staging and the remaining 20 horses, with no respiratory signs, served as control. All animals had been on a hay-based diet for a minimum of two months [12]. Horses showing more severe forms of EA were assessed during periods when, according to their owners, clinical symptoms were at their worst — meaning all examinations took place in exacerbation. None of the horses were treated with corticosteroids, bronchodilators, or antihistamines in the two weeks prior to evaluation, and there was no history of immunotherapy use. The study was approved by the Ethics and Animal Welfare Committee of the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Lisbon (007/2024) and owner consent was obtained for all the horses.

### 2.2 Asthma staging methods

All horses were subjected to the same clinical evaluation, to two asthma staging methods and to gold standard procedures. Upon arrival at the hospital the horses were allowed to rest in a stall for a period of one hour before their examination.

The HOARSI questionnaire was completed by the owners and the interview was carried out by one of the two trained clinicians. The diagnostic procedures involved in the TILLEY staging method [8] were carried out in the following

order, arterial blood gas analysis, thoracic x-ray, indirect pleural pressure measurement with an oesophageal balloon, flowmetric plethysmography and bronchoprovocation with histamine. Finally, the horses were sedated with detomidine (0.01 mg/kg) and butorphanol (0.01 mg/kg) in order to do a respiratory endoscopy and a BALF for cytology.

The clinical exam focused on the evaluation of nostril flare, abdominal lift, cough and nasal discharge.

A sample of arterial blood was collected from the transverse facial artery with a heparinized syringe and was immediately processed with a portable analyser (VetScan i-STATi ) to measure pH, PaCO<sub>2</sub>, PaO<sub>2</sub>, TCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, BE, sO<sub>2</sub> and lactate [10].

Chest x-rays were taken at end inspiration to visualise the thoracic trachea and the lung. These x-rays were examined for interstitial pattern, bronchial radiopacity, tracheal thickening and bronchial thickening, so that a thoracic x-ray score was determined [8].

Pleural pressure ( $\Delta P_{pl}$ ) was indirectly assessed with an oesophageal balloon catheter placed in the distal third of the esophagus and connected to a hand-held pressure transducer [10].

Flowmetric plethysmography (Open Pleth™ System) was carried out with histamine bronchoprovocation. Baseline measurements were taken for 2 minutes and if  $\Delta$ flow exceeded 3.5 l/s, or if the horse presented severe distress, the test was stopped. A saline solution was first nebulized, followed by increasing doses of histamine. Measurements were recorded after each dose for 3 minutes. The procedure was discontinued if  $\Delta$ flow rose by more than 50%, if the horse coughed repeatedly, or if the maximum histamine dose was reached [10].

A respiratory endoscopy was performed with a flexible video bronchoscope (10.4 × 3000 mm Karl Storz, PV-G 28–300) to evaluate mucus accumulation, colour, viscosity, localization and stickiness, in order to attribute an endoscopy score [8].

For the BAL technique, a silicone catheter was passed through the nostril into the trachea and advanced until it reached the smallest calibre bronchi possible, once in place the cuff was inflated and 500ml of warm sterile saline were instilled. Fluid was aspirated and the samples were pooled together. A 10 ml sample was placed in an EDTA tube and processed immediately to prevent cell damage. The neutrophil percentage was recorded as the BALF score [8].

### 2.3 Statistical analysis

In order to assess the relationship between the scores obtained by each of the equine asthma staging methods, HOARSI and TILLEY, and gold standard parameters, the data were evaluated. Normality was evaluated with the Shapiro-Wilks test. For two ordinal variables, Goodman and Kruskal's gamma ( $\gamma$ ) was used, as the ordinal data presented several "tied pairs" (2 and 4). Somers' Delta was applied to assess the model with one variable as the dependent variable and another as the independent variable. For continuous variables, when evaluated against ordinal variables, Spearman correlation coefficients were estimated. Otherwise, Goodman and Kruskal's Gama associations were verified. The interpretation of the estimates was based on the guidelines provided by [30], where 0.00 < 0.10 – Negligible, 0.10 < 0.20 – Weak, 0.20 < 0.40 – Moderate, 0.40 < 0.60 – Relatively Strong, 0.60 < 0.80 – Strong, 0.80 < 1.00 – Very Strong. Independent samples t-tests were used to compare control and treatment groups.

## 3. Results

### 3.1 Equine asthma staging

All horses included in the control group were graded as HOARSI score 1 and as TILLEY score 0. The results obtained for the test group using the HOARSI and the TILLEY staging methods are described in table 1 and table 2, respectively.

**Table 1.** HOARSI data from the test group

HOARSI									
Cough intensity	Cough	Cough Bouts	Nasal discharge	Respiration at work	Respiration at rest	Recovery post exercise	Performance	Motivation	Final score
2	2	1	1	1	0	0	3	2	23
2	3	1	0	1	1	2	1	1	3
1	2	0	0	1	1	0	2	3	4
2	2	1	1	2	0	1	2	4	2
0	0	0	0	1	1	1	2	2	4
2	1	0	1	1	0	0	2	1	3
1	2	1	0	1	0	0	2	3	3
2	3	1	1	1	1	1	2	2	3
2	2	1	1	2	1	1	2	3	4
1	2	0	0	1	1	3	1	1	4
2	2	0	1	0	0	0	3	3	3
2	2	1	1	1	1	0	2	3	3
2	3	1	1	0	0	0	3	3	3
2	2	1	0	1	1	1	3	3	4
2	2	1	0	2	0	0	2	1	3
2	2	1	1	1	0	0	2	2	3
2	2	1	1	1	1	1	2	2	2
2	3	1	1	3	1	2	1	1	4

**Table 2.** TILLEY data from the test group

TILLEY								
Cough	Abdominal lift	Nostril Flare	Clinical Score	Neutrophil %	BALF score	Xray score	Endoscopy score	Final Score

2	2	1	2	45	2	2	3	3
3	2	1	2	57	2	3	2	2
2	1	2	2	19	0	3	2	2
2	1	2	2	35	1	3	2	2
0	2	2	1	56	2	3	2	2
1	2	1	1	31	1	1	3	3
1	1	1	1	19	0	3	2	2
3	2	1	2	58	2	3	0	0
3	2	2	2	65	3	2	2	2
2	3	2	3	43	2	2	2	2
2	2	2	2	42	2	3	1	1
2	1	1	1	35	1	2	1	1
3	2	3	2	43	2	3	2	2
3	2	2	2	51	2	3	2	2
2	1	0	1	33	1	3	1	1
2	1	1	1	65	3	3	1	1
3	1	2	1	47	2	3	1	1
3	3	2	3	68	3	2	3	3

### 3.2 Staging methods vs Gold standard results

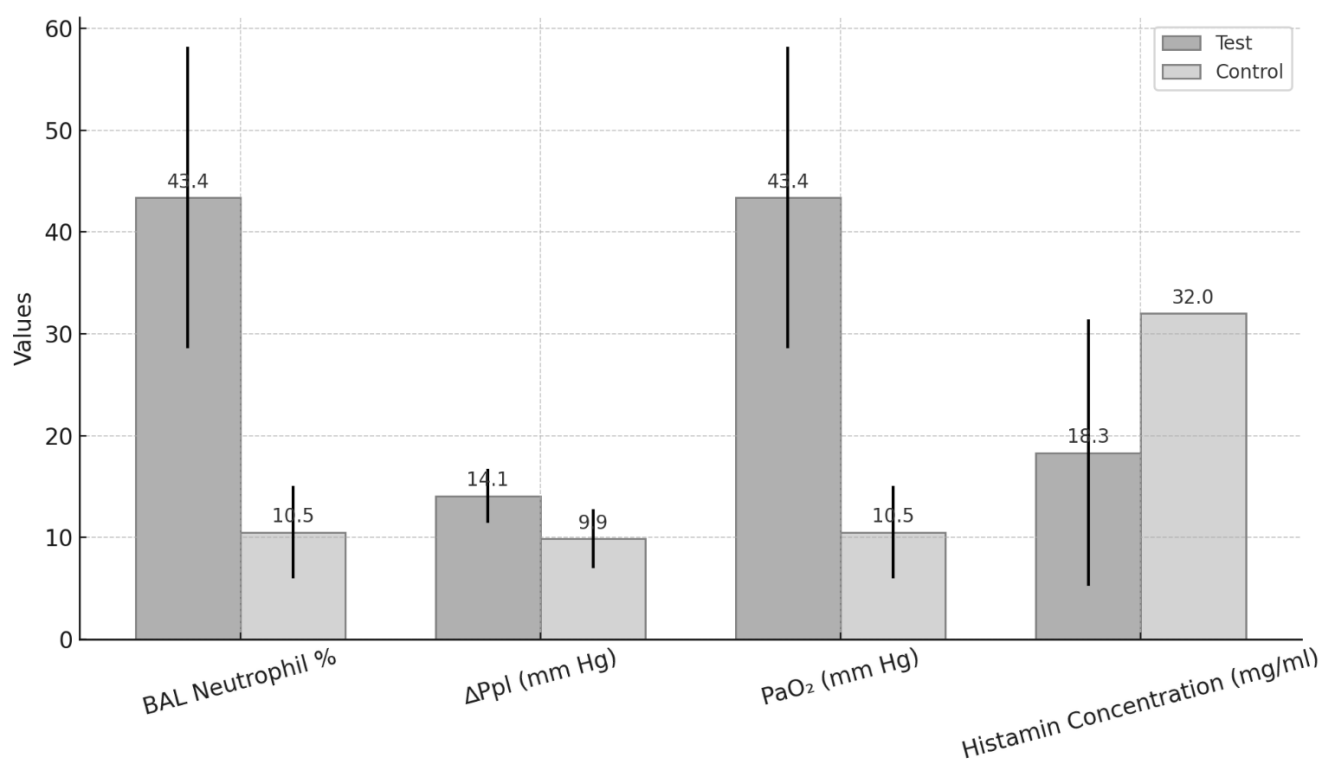
Data regarding the gold standard tests and the final scores obtained for the HOARSI and TILLEY staging methods are presented in table 3.

**Table 3.** HOARSI scores, TILLEY Scores and Gold standard results

Group	HOARSI score	TILLEY score	PaO <sub>2</sub> (mm Hg)	Histamine Concentration (mg/ml)	$\Delta$ Ppl (mm Hg)	BAL (%neutrophils)
	1	0	92	32	14	5
	1	0	91	32	11	19
	1	0	120	32	9	10
	1	0	96	32	11	8
	1	0	105	32	9	14
	1	0	95	32	12	12
	1	0	105	32	7	5
	1	0	96	32	13	6
	1	0	95	32	13	9
	1	0	97	32	10	4
Control	1	0	96	32	6	15
	1	0	97	32	10	8
	1	0	92	32	8	13
	1	0	96	32	13	14
	1	0	135	32	9	6
	1	0	99	32	13	8
	1	0	97	32	7	17
	1	0	117	32	6	16
	1	0	100	32	9	6
	1	0	116	32	4	10
	1	0	92	32	14	16
	2	2	96	16	15	44
	3	2	93	32	14	45
	4	2	88	8	16	57
	2	0	94	32	13	20
	3	1	92	-	14	19
	4	2	94	8	16	35
	3	2	95	4	15	56
	3	1	92	32	13	31
	3	1	98	32	13	19
	4	2	89	4	16	58
Test	4	3	91	4	18	65
	4	2	88	-	18	43
	3	2	96	16	13	42
	3	1	94	32	12	35
	3	3	93	8	6	43
	4	3	89	2	15	51
	3	1	97	32	13	33
	3	2	93	32	13	65
	2	1	96	32	15	35
	4	2	96	4	11	47
	4	3	80	-	17	68

All gold standards showed significantly different group means (control vs test group) (Figure 1).

**Figure 1.** Gold Standards (Histamine concentration, BAL neutrophil %, pO<sub>2</sub> and  $\Delta$ Ppl) group means +/- standard deviation, in the test and control groups



### 3.3 Statistical analysis

The statistical analysis revealed significant Spearman correlations and Goodman and Kruskal's Gamma ( $\gamma$ ) associations (GK Gamma association) between the HOARSI and the TILLEY staging methods and the Gold Standard parameters (Histamine concentration, BAL score - neutrophil % - ,  $PaO_2$  and  $\Delta Ppl$ ) in the test group, which are shown in Table 4.

Furthermore, there was a very strong positive GK Gamma association between the HOARSI and the cough parameter of the TILLEY clinical score. The TILLEY showed a very strong positive GK Gamma association with the physical exam and a relatively strong positive GK Gamma association with the cough frequency and with the recovery post exercise parameters of the HOARSI (table 4).

Moreover, the HOARSI presented very strong positive GK Gamma associations with the TILLEY endoscopy score and Xray score (table 4).

Regarding the gold standards, both staging methods (TILLEY and HOARSI) showed a very strong negative GK Gamma association with the histamine concentration, a strong positive GK Gamma association with  $\Delta Ppl$  and a relatively strong negative GK Gamma association with  $PaO_2$ . The HOARSI also presented a very strong positive GK Gamma association with the BAL score (neutrophil %) of the TILLEY score (table 4).

**Table 4.** Spearman correlations and Goodman and Kruskal's Gamma associations ( $\gamma$ ) between the HOARSI and the TILLEY staging methods and the Gold Standard parameters (Histamine concentration, BAL score - neutrophil % - ,  $PaO_2$  and  $\Delta Ppl$ ) in the test group. (p values in brackets; significant p values  $\leq 0.05$  in bold)

		TILLEY				HOARSI							Histamine concentration	BAL score	PaO <sub>2</sub>	$\Delta$ Ppl	
		Cough	Abdo- minal Lift	Nostril flare	Endoscopy Score	Xray Score	Physical exam	Cough frequency	Cough intensity	Cough bouts	Nasal discharge	Respira- tion at rest	Recovery post exercise				
Gamma Association	HOARSI	.935 (.000)	.600 (.099)	.462 (.206)	.857 (.000)	0.886 (.000)								-.802 (.000)	.924 (.000)		
	TILLEY						.992 (.000)	.660 (.026)	.579 (.118)	.561 (.135)	.440 (.250)	.412 (.271)	.681 (.005)	-.927 (.000)	.992 (.000)		
Spearman Correlation	HOARSI															-.597 (.000)	.677 (.000)
	TILLEY															-.562 (.000)	.631 (.000)

Additionally, the gold standards  $\Delta$ Ppl and PaO<sub>2</sub> were strongly correlated, having shown a negative Spearman correlation (r = -0.664).  $\Delta$ Ppl also presented a relatively strong negative Spearman correlation with the histamine concentration (r = -0.504) and a relatively strong positive correlation with the BAL neutrophil % (r= 0.597). PaO<sub>2</sub> showed a relatively strong positive correlation with the histamine concentration (r = 0.469) (Table 5).

**Table 5.** Spearman correlations among the gold standard parameters (Histamine concentration, BAL score - neutrophil % -, PaO<sub>2</sub> and  $\Delta$ Ppl), p < 0.005.

	PaO <sub>2</sub>	$\Delta$ Ppl	Histamine concentration	BAL Neut %
PaO <sub>2</sub>	1.0	-.664	.469	
$\Delta$ Ppl	-.664	1.0	-.504	.597
Histamine concentration	.469	-.504	1.0	

#### 4. Discussion

We aimed to identify correlations and/or associations between two distinct equine asthma staging methods, TILLEY and HOARSI, and one or more gold standard diagnostic procedures, in an effort to establish statistical significance for these staging methods.

Through the analysis of the data presented in this paper, we demonstrated GK Gamma associations and Spearman correlations between both staging methods and all the gold standard diagnostic procedures,  $\Delta$ Ppl, PaO<sub>2</sub>, histamine concentration (open plethysmography with bronchoprovocation) and BALF cytology, which were performed on this group of horses.

$\Delta$ Ppl results showed a strong positive Spearman correlation with the final score of both staging methods (r = 0.677 for HOARSI and r = 0.631 for TILLEY), reinforcing the relevance of these approaches in assessing airway obstruction and distinguishing varying degrees of airway dysfunction, thereby supporting their diagnostic value. Evidence of airflow limitation, as determined by the esophageal balloon catheter technique, is included in the main table of typical features of equine asthma syndrome in the most recent consensus statement on the inflammatory airway disease in horses. Horses with more severe equine asthma typically exhibit higher  $\Delta$ Ppl values, often accompanied by histological airway remodeling, which correlates with more severe findings in endoscopic, radiographic, and BAL assessments [14,21].

Similarly, PaO<sub>2</sub> presented a relatively strong negative Spearman correlation with both HOARSI ( $r = -0.597$ ) and TILLEY ( $r = -0.562$ ), suggesting that these methods capture aspects of oxygenation impairment, which tends to worsen with increasing bronchoconstriction and resulting ventilation-perfusion mismatch [14]. In horses with inflammatory airway disease there is a significant drop in PaO<sub>2</sub> during exercise, whereas upper airway obstruction does not result in major changes in PaO<sub>2</sub>, despite the presence of hypercapnia, suggesting that bronchoconstriction plays a key role in oxygenation deficits rather than as a simple ventilatory restriction [26].

Regarding the maximum histamine dose used in bronchoprovocation, assessed with open plethysmography, there was a very strong negative GK Gamma association with TILLEY ( $\gamma = -0.927$ ), as well as with HOARSI ( $\gamma = -0.802$ ), suggesting that both methods reflect airway hyperreactivity, previously described as a feature of asthma severity [22], where lower histamine doses trigger bronchoconstriction more readily. The fact that HOARSI also showed a very strong correlation with histamine concentration suggests that more reactive airways are associated with more severe clinical signs, such as increased cough frequency and exercise intolerance, which are easily noticed by horse owners. More precisely, recovery time post-exercise, as assessed by the HOARSI, was well noted by owners, having shown a strong positive association with TILLEY ( $\gamma = 0.681$ ).

Concerning bronchoalveolar lavage fluid (BALF) neutrophil percentage, a widely recognized indicator of airway inflammation, there was a strong positive GK Gamma association with HOARSI ( $\gamma = 0.924$ ). The association of BALF neutrophil percentage with TILLEY was not considered, since this parameter contributed to determine the TILLEY final score. The association between BALF neutrophil percentage and HOARSI supports this method's potential as a surrogate marker of neutrophilic airway inflammation. Other authors highlighted the strong association between airway neutrophilia and clinical disease severity, suggesting that less invasive staging methods such as HOARSI could serve as practical alternatives when BAL is unavailable [22].

Overall, the gold standard diagnostic procedures,  $\Delta Ppl$ , PaO<sub>2</sub>, maximum histamine concentration and BAL neutrophil %, showed strong or relatively strong Spearman correlations with each other and significantly different average values between control and test groups, reinforcing the relevance of the results.

With respect to data collected through the physical examination, there was a very strong positive association ( $\gamma = 0.992$ ) between this component of HOARSI and the TILLEY final score, suggesting that both methods rely on overlapping clinical parameters to evaluate disease progression. Moreover, there was a very strong positive association between cough frequency registered with the TILLEY method and the HOARSI final score ( $\gamma = 0.935$ ) and there was a the strong positive association between the cough frequency reported by the HOARSI and the TILLEY final score ( $\gamma = 0.660$ ). This aligns with prior findings that cough is one of the most commonly reported clinical sign in asthmatic horses [14,31] and corroborates its role in staging disease severity based on owner-observed symptoms. Other authors have reported that the owners are more likely than veterinarians to detect coughing, and a reduction in coughing is the most commonly noted improvement by owners after treatment. However, on average, owners and veterinarians tend to agree on the patient's overall clinical picture [31].

Other clinical signs were also associated with each staging method. Recovery time post-exercise, as assessed by the HOARSI, had a strong positive association with TILLEY ( $\gamma = 0.681$ ), consistent with the fact that asthmatic horses exhibit

altered airflow dynamics post-exercise [32], suggesting a contribution of both methods to the detection of exercise intolerance.

On the other hand, cough bouts ( $r= 0.561$ ;  $p= 0.135$ ) and cough intensity ( $r= 0.579$ ;  $p= 0.118$ ), as well as respiration at rest ( $r= 0.412$ ;  $p= 0.271$ ), as assessed by HOARSI, were less representative in asthma staging, as they did not show a significant association with the TILLEY final score.

Also, nostril flare ( $r= 0.462$ ;  $p= 0.206$ ) and abdominal lift ( $r= 0.600$ ;  $p= 0.099$ ), as assessed by TILLEY, were not significantly associated with the HOARSI final score. These results suggest that clinical signs focused on the observation of movement of the nostrils or the abdomen are more difficult for owners to assess, resulting in lower agreement with veterinarian-based evaluations. In fact, the nostrils here showed a poorer association result when compared to the abdomen. Furthermore, nasal discharge ( $r= 0.440$ ;  $p= 0.250$ ), as assessed by HOARSI was not significantly associated with the TILLEY final score. In the authors' experience, owners of asthmatic horses seldom refer to clinical signs involving the nostrils, like nostril flare or nasal discharge, but often describe the abdomen of asthmatic horses as "beating".

These findings are similar to those described in a previous study where, across all visits, the most common owner complaint was cough (74 instances), followed by respiratory effort (62 instances), exercise intolerance (62 instances), nasal discharge (26 instances) and nasal flare (only 7 instances), while 46 clinicians identified nasal flaring [31].

A potential explanation for this discrepancy can be found in a study about the human eye behaviour during multiple identity tracking (MIT), which closely resembles tracking in the real world. In this task, observers dynamically track multiple moving objects with distinct identities [33]. We could consider the movement of the nostrils in an asthmatic horse with simultaneous head/neck movement to be an example of MIT, in contrast with abdominal movement which usually happens isolated from other structures' movement. In MIT, there is a strong preference for the target-switching strategy, presumably to refresh and maintain identity-location bindings for the targets. This is true, for example, of car drivers maneuvering a vehicle across a busy intersection where the driver has to keep track of other vehicles approaching the intersection and of pedestrians crossing the street. Tracking of multiple distinct identities is more difficult than tracking the whereabouts of identical objects and perhaps not more than two objects with distinct identities can be successfully tracked [33]. This might explain why owners focus more on other clinical signs, such as coughing and even abdominal effort, which is easier to identify than nostril flare.

On the contrary, veterinarians are trained to look for specific clinical signs, which could influence their performance during MIT. In fact, the same study carried out in humans, points out some adaptations like pupil dilation presumably reflecting attentional effort and reduced number of blinks indicating that observers opt for maximal visual sampling when the task becomes demanding. These authors refer, as an example of this, a study involving air traffic controllers, where conflict detection among the untrained participants was low [33].

A recent study by our group explored the use of artificial intelligence and smartphone video recordings for detecting asthma in horses, based on the movements of the nostrils and abdomen. The best-performing model achieved an average accuracy of 89% in distinguishing asthmatic from healthy horses by using nostril data alone [34]. We would like to suggest that this could be a case where artificial intelligence (AI) may complement the diagnosis

made by humans. In fact, as a future perspective, the development of a multimodal AI diagnostic model could be considered, integrating diverse data types to promote the use of less invasive diagnostic methods [35].

This study highlights the reliability of both HOARSI and TILLEY methods in the staging of equine asthma, demonstrating strong Spearman correlations and Goodman and Kruskal's Gamma associations ( $\gamma$ ) with gold-standard lung function parameters.

There are however some limitations of the study, like the small sample size. Additionally, the study was conducted at a single hospital, limiting external validity.

## 5. Conclusions

Both equine asthma staging methods, HOARSI and TILLEY, showed strong statistical Spearman correlations and Gamma associations with the studied gold-standard pulmonary function tests, highlighting their usefulness for clinical and research purposes.

The two methods may have different but complementary roles in staging equine asthma. The HOARSI, as a non-invasive method, relying on owner-reported clinical signs and clinical history, provides a longitudinal perspective of disease progression over time, making it particularly valuable for field-based triage evaluations and early detection of respiratory impairment, enabling referral to a hospital or recruitment for clinical studies. The TILLEY, which involves veterinary examinations and diagnostic imaging, offers a real-time assessment and further characterization of disease severity, making it better suited for hospital-based monitoring and treatment adjustments, and for comparison across studies.

Applying both methods could facilitate earlier diagnosis, enhance diagnostic accuracy, enable more personalized treatment strategies, and improve disease monitoring – ultimately promoting respiratory health, supporting timely veterinary decision-making and advancing equine welfare. Based on the data presented in this paper, the authors suggest using cough, recovery post-exercise and eventually abdominal lift and as the main owner reported response to treatment and/or environmental changes.

With further validation in a larger multicentric sample, these staging methods could be applied with even greater confidence in both clinical practice and research.

**Funding:** This research was funded by the Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT), through grants UIDB/00276/2020 (CIISA) and LA/P/0059/2020 (AL/4/AnimalS).

**Institutional Review Board Statement:** All procedures performed were in accordance with the ethical standards of the Portuguese and European Union legislation for animal experiments and this research was approved by the Ethics and Welfare Comity (CEBEA) of the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Lisbon (FMV-ULisboa) under the reference 007/2014.

**Informed Consent Statement:** Horses described in this paper were clinical cases presented to the hospital for respiratory evaluation. All horse owners were previously informed of the test protocol and signed an informed consent form specific for this work.

**Data Availability Statement:** All existing data is shown in this paper.

**Acknowledgments:** We would like to thank the owners and their horses that participated in this study. We also express our gratitude to Eng. Marta Vacas de Carvalho for the statistical analysis.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Klier, J.; Fuchs, S.; Winter, G.; Gehlen, H. Inhalative Nanoparticulate CpG Immunotherapy in Severe Equine Asthma: An Innovative Therapeutic Concept and Potential Animal Model for Human Asthma Treatment. *Animals* **2022**, *12*.
2. Gerber, V.; King, M.; Schneider, D.A.; Robinson, N.E. Tracheobronchial Mucus Viscoelasticity during Environmental Challenge in Horses with Recurrent Airway Obstruction. *Equine Vet J* **2000**, *32*, 411–417, doi:10.2746/042516400777591183.
3. Khol-Parisini, A.; van den Hoven, R.; Leinker, S.; Hulan, H.W.; Zentek, J. Effects of Feeding Sunflower Oil or Seal Blubber Oil to Horses with Recurrent Airway Obstruction. *Can J Vet Res* **2007**, *71*, 59–65.
4. Rush, B.R.; Raub, E.S.; Rhoads, W.S.; Flaminio, M.J.; Matson, C.J.; Hakala, J.E.; Gillespie, J.R. Pulmonary Function in Horses with Recurrent Airway Obstruction after Aerosol and Parenteral Administration of Beclomethasone Dipropionate and Dexamethasone, Respectively. *Am J Vet Res* **1998**, *59*, 1039–1043.
5. Naylor, J.M.; Clark, E.G.; Clayton, H.M. Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Usefulness of Clinical Signs, Bronchoalveolar Lavage, and Lung Biopsy as Diagnostic and Prognostic Aids. *Can Vet J* **1992**, *33*, 591–598.
6. Moore, B.R.; Krakowka, S.; Cummins, J.M.; Robertson, J.T. Changes in Airway Inflammatory Cell Populations in Standardbred Racehorses after Interferon-Alpha Administration. *Vet Immunol Immunopathol* **1996**, *49*, 347–358, doi:10.1016/0165-2427(95)05480-4.
7. Tesarowski, D.B.; Viel, L.; McDonell, W.N. Pulmonary Function Measurements during Repeated Environmental Challenge of Horses with Recurrent Airway Obstruction (Heaves). *Am J Vet Res* **1996**, *57*, 1214–1219.
8. Tilley, P.; Sales Luis, J.P.; Branco Ferreira, M. Correlation and Discriminant Analysis between Clinical, Endoscopic, Thoracic X-Ray and Bronchoalveolar Lavage Fluid Cytology Scores, for Staging Horses with Recurrent Airway Obstruction (RAO). *Res Vet Sci* **2012**, *93*, 1006–1014, doi:10.1016/j.rvsc.2011.10.024.
9. Ohnesorge, B.; Trötschel, C.; Deegen, E. Diagnostic Value of Capnography in Horses with COPD. *Pferdeheilkunde Equine Medicine* **1998**, *14*, 450–455, doi:10.21836/PEM19980602.
10. Simões, J.; Sales Luís, J.; Tilley, P. Contribution of Lung Function Tests to the Staging of Severe Equine Asthma Syndrome in the Field. *Res Vet Sci* **2019**, *123*, 112–117, doi:10.1016/j.rvsc.2018.12.014.
11. Hotchkiss, J.W.; Reid, S.W.; Christley, R. Construction and Validation of a Risk-Screening Questionnaire for the Investigation of Recurrent Airway Obstruction in Epidemiological Studies of Horse Populations in Great Britain. *Prev Vet Med* **2006**, *75*, 8–21, doi:10.1016/j.prevetmed.2006.01.001.
12. Ramseyer, A.; Gaillard, C.; Burger, D.; Straub, R.; Jost, U.; Boog, C.; Marti, E.; Gerber, V. Effects of Genetic and Environmental Factors on Chronic Lower Airway Disease in Horses. *J Vet Intern Med* **2007**, *21*, 149–156, doi:10.1111/j.1939-1676.2007.tb02941.x.
13. Gerber, V.; Schott, H.C.; Robinson, N.E. Owner Assessment in Judging the Efficacy of Airway Disease Treatment. *Equine Vet J* **2011**, *43*, 153–158, doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00156.x.
14. Couëtil, L.L.; Cardwell, J.M.; Gerber, V.; Lavoie, J.P.; Léguillette, R.; Richard, E.A. Inflammatory Airway Disease of Horses-Revised Consensus Statement. *J Vet Intern Med* **2016**, *30*, 503–515, doi:10.1111/jvim.13824.
15. Couetil, L.; Cardwell, J.M.; Leguillette, R.; Mazan, M.; Richard, E.; Bienzle, D.; Bullone, M.; Gerber, V.; Ivester, K.; Lavoie, J.-P.; et al. Equine Asthma: Current Understanding and Future Directions. *Front Vet Sci* **2020**, *7*, doi:10.3389/fvets.2020.00450.
16. Simões, J.; Tilley, P. Decision Making in Severe Equine Asthma—Diagnosis and Monitoring. *Animals* **2023**, *13*, 3872, doi:10.3390/ani13243872.

17. Hoffman, A.M. Bronchoalveolar Lavage: Sampling Technique and Guidelines for Cytologic Preparation and Interpretation. In *Veterinary Clinics of North America – Equine Practice*; 2008; pp. 423–435.
18. Couëtil, L.L.; Hoffman, A.M.; Hodgson, J.; Buechner-Maxwell, V.; Viel, L.; Wood, J.L.N.; Lavoie, J. Inflammatory Airway Disease of Horses. *J Vet Intern Med* **2007**, *21*, 356–361, doi:10.1111/j.1939-1676.2007.tb02975.x.
19. Léguillette, R.; Lavoie, J.-P. Effects of the Bronchoalveolar Lavage Procedure on Lung Function in Horses with Clinical Exacerbation of Recurrent Airway Obstruction. *Am J Vet Res* **2006**, *67*, 1929–1933, doi:10.2460/ajvr.67.11.1929.
20. Derksen, F.J.; Slocombe, R.F.; Brown, C.M.; Rook, J.; Robinson, N.E. Chronic Restrictive Pulmonary Disease in a Horse. *J Am Vet Med Assoc* **1982**, *180*, 887–889, doi:10.2460/javma.1982.180.08.887.
21. Robinson, N.E.; Derksen, F.J.; Jackson, C.A.; Peroni, D.; Gerber, V. Management of Heaves. *Equine Vet Educ* **2001**, *13*, 247–259, doi:10.1111/j.2042-3292.2001.tb00104.x.
22. Mazan, M.R.; Hoffman, A.M. Clinical Techniques for Diagnosis of Inflammatory Airway Disease in the Horse. *Clinical Techniques in Equine Practice* **2003**, *2*, 238–257, doi:10.1053/S1534-7516(03)00067-2.
23. Couëtil, L.L.; Hawkins, J.F. *Respiratory Diseases of the Horse. A Problem-Oriented Approach to Diagnosis & Management.*; Manson Publishing Ltd. : London, UK, 2013;
24. Irizarry, R.; Reiss, A. Arterial and Venous Blood Gases: Indications, Interpretations, and Clinical Applications. *Compend Contin Educ Vet* **2009**, *31*, E1-7; quiz E7.
25. Chevalier, H.; Divers, T.J. Pulmonary Dysfunction in Adult Horses in the Intensive Care Unit. *Clinical Techniques in Equine Practice* **2003**, *2*, 165–177, doi:10.1016/S1534-7516(03)00011-8.
26. Sánchez, A.; Couëtil, L.L.; Ward, M.P.; Clark, S.P. Effect of Airway Disease on Blood Gas Exchange in Racehorses. *J Vet Intern Med* **2005**, *19*, 87, doi:10.1892/0891-6640(2005)19<87:EOADOB>2.0.CO;2.
27. Stopyra, A.; Sobiech, P.; Waclawska-Matyjasik, A. Acid-Base Indicators in the Venous and Arterial Blood of Horses Affected by Recurrent Airway Obstruction (RAO). *Pol J Vet Sci* **2012**, *15*, doi:10.2478/v10181-012-0071-x.
28. Picandet, V.; Jeanneret, S.; Lavoie, J.-P. Effects of Syringe Type and Storage Temperature on Results of Blood Gas Analysis in Arterial Blood of Horses. **2007**.
29. Nyman, G.; Marntell, S.; Edner, A.; Funkquist, P.; Morgan, K.; Hedenstierna, G. Effect of Sedation with Detomidine and Butorphanol on Pulmonary Gas Exchange in the Horse. *Acta Vet Scand* **2009**, *51*, 22, doi:10.1186/1751-0147-51-22.
30. Rea, L.M.; Parker, R.A. *Designing and Conducting Survey Research: A Comprehensive Guide, 4th Edition*; 4th ed.; 2014;
31. Robins, T.J.; Bedenice, D.; Mazan, M. A Longitudinal Analysis of Equine Asthma Presentation and Response to Treatment Using Lung Function Testing and BAL Cytology Analysis in Combination with Owner Perception. *Animals* **2023**, *13*, doi:10.3390/ani13213387.
32. Herteman, N.; Mosing, M.; Waldmann, A.D.; Gerber, V.; Schoster, A. Exercise-Induced Airflow Changes in Horses with Asthma Measured by Electrical Impedance Tomography. *J Vet Intern Med* **2021**, *35*, 2500–2510, doi:10.1111/jvim.16260.
33. Hyönä, J.; Li, J.; Oksama, L. Eye Behavior during Multiple Object Tracking and Multiple Identity Tracking. *Vision (Switzerland)* **2019**, *3*, doi:10.3390/vision3030037.
34. Gomes, C.; Tilley, P.; Coheur, L. Evaluating Asthma in Equines with Video Recordings. In; 2025; pp. 38–49.
35. Gomes, C.; Coheur, L.; Tilley, P. A Review of Multimodal AI in Veterinary Diagnosis: Current Trends, Challenges, and Future Directions. *IEEE Access* **2025**, 1–1, doi:10.1109/ACCESS.2025.3575343.

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.