

UFRRJ
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS

DISSERTAÇÃO:

**Respostas autonômicas e comportamentais ao estresse
sonoro agudo em cães de companhia com histórico de
fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício**

Carla Caroline Franzini de Souza

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS

**RESPOSTAS AUTONÔMICAS E COMPORTAMENTAIS AO
ESTRESSE SONORO AGUDO EM CÃES DE COMPANHIA COM
HISTÓRICO DE FOBIA A SONS DE TROVÃO E/OU FOGOS DE
ARTIFÍCIO**

CARLA CAROLINE FRANZINI DE SOUZA

Sob a Orientação da Professora

Magda Alves de Medeiros

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção do
grau de **Mestre em Ciências**, no
Programa de pós-graduação em
Ciências Fisiológicas.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2015

636.7

S729r

T

Souza, Carla Caroline Franzini de, 1988-
Respostas autonômicas e comportamentais
ao estresse sonoro agudo em cães de
companhia com histórico de fobia a sons de
trovão e/ou fogos de artifício / Carla
Caroline Franzini de Souza - 2015.

102 f.: il.

Orientador: Magda Alves de Medeiros.

Dissertação (mestrado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de
Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

Bibliografia: f. 67-76.

1. Cão - Fisiologia - Teses. 2. Cão -
Efeito do stress - Teses. 3. Cão -
Comportamento - Teses. 4. Stress
(Fisiologia) - Teses. I. Medeiros, Magda
Alves de, 1973-. II. Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-
Graduação em Ciências Fisiológicas. III.
Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

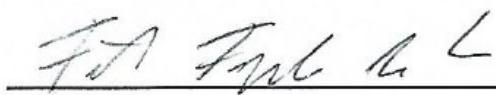
CARLA CAROLINE FRANZINI DE SOUZA

Dissertação submetida, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em**
Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 25/02/2015.



Magda Alves de Medeiros (Ph. D) UFRRJ
(Orientadora)



Fábio Fagundes da Rocha (Ph. D) UFRRJ



Luciene Covolan (Ph. D) UNIFESP

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à Francesco (cão), Sarah (gata) e Myul (gata), os animais que me acompanharam desde a infância, me encantando no dia a dia com o carinho, companheirismo e inteligência e, que nos últimos meses nos deixaram após 15 anos de maravilhosos tempos.

Dedico, também, a minha amada Universidade Rural, que me deu, não só a oportunidade de ter uma profissão, como a de seguir na pesquisa do que amo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meu amado marido Rodrigo, que me apoiou, incondicionalmente em todos os momentos bons e difíceis nesses dois anos de pesquisa, me ajudando, do trabalho braçal ao apoio emocional, sempre acreditando que eu era capaz.

Agradeço a meus familiares queridos, à Helena, que mesmo precisando de meus cuidados e atenção, foi compreensiva me ajudando e me dando todo o carinho, quando eu mais precisava. A meus avós pelo amor incondicional, meus pais, Carlos e Cris e a minha irmã, Catarine que, mesmo à distância participaram de tudo e, se fizeram sempre presentes. A meus, sogros queridos, Anna e Aluisio e a meu cunhado Rômulo, sempre me apoiando e dando força no dia a dia, para que eu desse conta de tudo.

Agradeço, imensamente aos cães que, foram todos maravilhosos, e à seus proprietários que sem medir esforços, ajudaram muito em nossa pesquisa, colaborando e confiando seus animais a nós.

Agradeço à Raquel por me ajudar nos estudos, na pesquisa, no experimento, sempre com muita dedicação. À Marissa querida, por dedicar muitas de suas manhãs para me ajudar com os cães. À Julia, sempre com seus conselhos sábios e oportunos.

Agradeço às meninas do grupo de estudo em Medicina Alternativa, Beth, Morgana, Giulia, Alana, Renata, Tati, que fizeram me sentir parte de um grupo de trabalho e amizade.

A meus queridos colegas de curso, Raoni, Bruno, Debora, Lívia, Gabi e Joice que passaram comigo, momentos de muito estudo, dedicação, e cansaço, sempre transformando os momentos mais tensos, em divertimento.

Agradeço aos professores do Departamento de Ciências Fisiológicas, por me guiarem no caminho do conhecimento e da ciência.

Agradeço ao professor Argemiro, pelo imenso apoio e acolhimento, quando mais precisamos.

Agradeço a banca pela disponibilidade em contribuir com nosso trabalho.

Agradeço às agências de fomento CAPES e FAPERJ.

E, finalmente, agradeço a minha orientadora Magda, por esse projeto e por ter sido a primeira a acreditar que eu era capaz e que chegaríamos até aqui. Sempre com muita paciência me explicando, explicando e explicando caminhou comigo, ultrapassando as dificuldades, não me deixando desistir, nunca.

RESUMO

FRANZINI, Carla Caroline de Souza. **Respostas autonômicas e comportamentais ao estresse sonoro agudo em cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício.** 2015. 102 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

O estresse é a situação gerada por um desafio ao qual um organismo está submetido. E apesar da resposta de estresse ser fundamental para homeostase, a persistência do estímulo estressor ou o exagero na resposta pode provocar consequências deletérias para o indivíduo. A fobia é considerada um transtorno de ansiedade, onde o medo (estado emocional em resposta a uma situação de perigo) é persistente e excessivo o que resulta num aumento da reatividade ao estresse. Nesse contexto vários estímulos são considerados estressores em cães e a exposição a estímulos sonoros como trovões e fogos de artifício representa uma opção natural para o estudo da reatividade ao estresse. Desta forma, avaliamos a reatividade de cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício a um modelo de estresse sonoro agudo, através da análise da Variabilidade do Intervalo Cardíaco (VIC) e de parâmetros comportamentais. Foram utilizados 28 cães de companhia, de diversas raças, de 2 a 6 anos, pesando de 10 a 30 Kg, sem sinais de outras doenças, provenientes de proprietários voluntários do município de Seropédica-RJ. Estes foram selecionados por questionário referente a intensidade do medo de trovão e fogos de artifício, divididos em grupos de fóbicos e não fóbicos e ainda entre os estímulos som de trovão e fogos de artifício. O estímulo sonoro consistiu numa gravação padronizada de 2,5 minutos, a uma intensidade sonora máxima de 103-104 dB. Para a análise da VIC, os intervalos RR foram registrados através de frequencímetro (Polar® modelo RS800CX), computados e analisados pelo programa CardioSeries 2.4.1. Também foram avaliados o perfil dos proprietários, características gerais (peso, idade, raça e sexo) e de manejo dos animais. Não foram detectadas diferenças no perfil socioeconômico dos proprietários, nem características gerais ou de manejo entre animais fóbicos e não-fóbicos. O estímulo sonoro (trovão ou fogos) foi capaz produzir aumento significativo da razão LF/HF tanto em animais não-fóbicos como em animais fóbicos. No entanto, a magnitude do aumento na razão LF/HF produzida pelo som foi significativamente maior em animais fóbicos do que em animais não-fóbicos. O modelo de estresse sonoro agudo produziu um aumento nos comportamentos de vigilância, tremer e se esconder. Apenas animais fóbicos submetidos ao modelo som de fogos apresentaram respostas comportamentais significativamente mais intensas que cães não-fóbicos nos parâmetros Tremer, Se Esconder, Vigilância e Salivação. As respostas comportamentais descritas pelos proprietários e as exibidas pelos cães durante o modelo de estresse foram correlacionadas apenas nos parâmetros Tremer e Se Esconder. Foi detectada correlação significativa entre os valores da razão LF/HF e os seguintes parâmetros comportamentais induzidos pelo som no laboratório: Arfar, Tremer, Se Esconder, Fugir, Inquietação, Vigilância, Salivação e Sobressalto. O modelo utilizado foi capaz de induzir respostas comportamentais e autonômicas de estresse e se mostra uma boa ferramenta na mensuração da magnitude das respostas de estresse de animais de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e fogos de artifício e pode ser utilizado na avaliação de novos caminhos terapêuticos.

Palavras-chaves: estresse em cão, variabilidade do intervalo cardíaco, comportamento, fobia a sons.

ABSTRACT

FRANZINI, Carla Caroline de Souza. **Autonomic and behavioural responses to noise acute stress in companion dogs with phobia of thunder and/or fireworks sounds.** 2015. p. 105 Thesis (MA in Physiological Sciences). Institute of Biology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

Stress is a situation caused by a challenge in which a body is subject. And despite the stress response is essential for homeostasis, the persistence of the stressor stimulus or exaggerated response can induce deleterious consequences. A phobia is considered an anxiety disorder where the fear (emotional state in response to a situation of danger) is persistent and excessive which results in increased reactivity to stress. In this context many stimuli are considered stressors in dogs and the exposure to noise stimuli as thunder and fireworks is a natural choice for the study of reactivity to stress. Thus, we have evaluated the reactivity of companion dogs with history of phobia of the thunder sounds and/or fireworks to an acute acoustic stress model, by analysing the variability of Cardiac Interval (VCI) and behavioural parameters. We used 28 companion dogs, different breeds, 2 to 6 years old, weighing 10 to 30 kg, with no signs of other diseases, from volunteers owners of City of Seropédica-RJ. The dogs were selected by questionnaire on the intensity of the fear of thunder and fireworks, divided in phobic or not phobic and between the stimuli sound of thunder or fireworks. The sound stimulus consisted of a standardized recording from 2.5 minutes to a maximum intensity of sound of 103-104 dB. For the analysis of VCI, RR intervals were recorded through frequency meter (Polar ® RS800CX model), stored and analysed using CardioSeries 2.4.1 software. We also evaluated the profile of the owners, general characteristics (weight, age, race and gender) and handling of animals. No differences were found in the socioeconomic profile of the owners, or general characteristics or animal handling between phobic and non-phobic dogs. The sound stimulus (thunder or fireworks) was able to induce a significant increase in LF / HF ratio in both non-phobic animals and phobic animals. However, the magnitude of the sound-induced increase in the LF/HF was significantly higher in phobic than in non-phobic animals. The acute sound stress model produced an increase in the behaviour of surveillance, trembling and hiding. Only phobic animals submitted to fireworks sound model had significantly more intense behavioural responses than non-phobic dogs in the behaviours: Shivering, Hiding, Surveillance and Salivation. Behavioural responses described by the owners and shown by dogs during the stress model were correlated only in the behaviours: Shivering and Hiding. Significant correlation was found between the ratio values LF / HF and the following behavioural parameters induced by sound in the laboratory: Panting, Shivering, Hiding, Escape, Shockwave, Surveillance, Salivation and Startle. The sound model was able to induce behavioural and autonomic responses of stress and it shown a good tool to measure the magnitude of stress responses in the companion dogs with history of phobia of thunder and fireworks sounds and it can be used in the study of new therapeutic targets.

Keywords: stress in dogs, variability of cardiac interval, behaviour, noise phobia

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1: Descrição dos 14 parâmetros comportamentais analisados.....	31
Tabela 2: Perfil geral dos proprietários.	33
Tabela 3: Perfil dos proprietários dos cães segundo os grupos não-fóbicos e fóbicos...	34
Tabela 4:Características gerais dos animais não-fóbicos e fóbicos.....	35
Tabela 5: Características de manejo dos animais não-fóbicos e fóbicos.....	36
Tabela 6: Características comportamentais dos animais não-fóbicos e fóbicos.....	38
Tabela 7: Parâmetros comportamentais avaliados no experimento.....	47
Tabela 8: Correlação entre parâmetros comportamentais avaliados pelos proprietários e os avaliados durante o experimento.....	51
Figura 1:Ativação do SAM e do eixo HHA.	8
Figura 2: Análise espectral da VIC	13
Figura 3: Vias envolvidas no processamento da informação emocional.....	19
Figura 4: Conexões núcleo central da amígdala.	20
Figura 5: Esquema do protocolo experimental.....	25
Figura 6: Cão no momento do som.	26
Figura 7: Componentes do Polar modelo RS800CX.....	27
Figura 8: Tela inicial do programa Polar Pro Trainer 5®.	28
Figura 9: Gráfico confeccionado pelo programa Polar Pro Trainer 5®.	28
Figura 10: Tela do programa CardioSeries, demonstrando a razão entre os componentes de frequência LF e HF, a partir da FFT	30
Figura 11: Parâmetros avaliados segundo proprietário.	40
Figura 12: Razão LF/HF de cães Fóbicos e Não fóbicos a sons de Trovão e/ou Fogos de Artificio submetidos ao estresse sonoro agudo.....	41
Figura 13: LF (componente de baixa frequência) de cães Fóbicos e Não fóbicos submetidos ao estresse sonoro agudo através de sons de Trovão e Fogos de Artifício.....	42
Figura 14: HF (componente de alta frequência) de cães Fóbicos e Não-fóbicos a sons de Trovão e/ou Fogos de Artifício submetidos ao estresse sonoro agudo.....	44
Figura 15: FC (Frequência Cardíaca Média) dos cães submetidos ao estresse sonoro agudo. .	45
Figura 16: RMSSD (raiz quadrada da média das diferenças entre intervalos entre batimentos consecutivos elevadas ao quadrado) de cães submetidos ao estresse sonoro agudo.	45

Figura 17: Oito dos parâmetros comportamentais induzidos pelo som em cães de companhia submetidos a um modelo de estresse sonoro agudo.....	49
Figura 18: Seis dos parâmetros comportamentais induzidos pelo som em cães de companhia submetidos a um modelo de estresse sonoro agudo.....	50
Figura 19: Correlação entre os parâmetros comportamentais induzidos pelo som no laboratório e os parâmetros comportamentais segundo os proprietários.....	53
Figura 20: Correlação entre os parâmetros comportamentais induzidos pelo som no laboratório e a razão LF/HF	54

LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

AC: Adenilatociclase;
ACh: Acetilcolina;
ACTH: Hormônio adrenocorticotrófico;
AVP: Vasopressina;
CCP: Corpos Celulares Pré-ganglionares;
CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais;
CRH: Hormônio liberador de corticotropina;
dB: decibéis;
DCF: Departamento de Ciências Fisiológicas;
DPA: Departamento de Parasitologia Animal;
FC: Frequência Cardíaca;
FFT: Transformada Rápida de Fourier;
GR: Receptor de Glicocorticóides;
HF: Frequência alta;
HHA: Eixo Hipotálamo Hipófise Adrenal;
IRR: Intervalos RR;
LC: Locus Coeruleus
LF: Frequência baixa
MR: Receptor de Mineralocorticóide;
NAV: Nodo Atrioventricular;
NA: Noradrenalina;
NS: Nodo Sinoatrial;
PKA: Proteína quinase dependente de AMPc;
PVN: Núcleo Paraventricular do Hipotálamo;
RMSSD: raiz quadrada da média das diferenças entre intervalos, entre batimentos consecutivos, elevadas ao quadrado;
SAM: Sistema Simpato-adreno-medular;
SNA: Sistema Nervoso Autônomo;
SNC: Sistema Nervoso Central;
SNP: Sistema Nervoso Parassimpático;
SNS: Sistema Nervoso Simpático;

SRD: Sem raça definida

STDRR: Desvio padrão de todos os intervalos RR do segmento;

UFRRJ: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro;

VIC: Variabilidade do Intervalo Cardíaco.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	v
AGRADECIMENTOS	vi
RESUMO.....	vii
LISTA DE TABELAS E FIGURAS	ix
LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	xi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Justificativa	3
1.2 Objetivos.....	4
1.2.1 Geral	4
1.2.2 Específicos	4
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 Estresse	5
2.2 Fisiologia do estresse	6
2.3 Variabilidade do Intervalo Cardíaco Durante o Estresse.....	10
2.3.1Regulação autonômica da atividade cardíaca.....	10
2.3.2 A Análise espectral da Variabilidade do Intervalo Cardíaco (VIC).....	12
2.4 Estímulo Sonoro em Cães	14
2.5 Alterações comportamentais em cães	16
2.6 Fobia em cães	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1 Local de Execução do Trabalho Experimental.....	22
3.2 Animais	22
3.2.1 Considerações éticas	23
3.2.2 Caracterização de fobia a som.....	23
3.3 Procedimentos Experimentais	24

3.3.1 Estímulo Sonoro.....	25
3.4 Grupos experimentais	26
3.5 Coletas de sangue.....	26
3.6 Uso do Frequencímetro	27
3.7 Análise Espectral da VIC.....	27
3.8 Análise Comportamental	30
3.9 Análise Estatística.....	31
4 RESULTADOS	33
4.1 Perfil dos proprietários e características gerais dos animais	33
4.2 Análise da Variabilidade do Intervalo Cardíaco	41
4.3 Análise das reações comportamentais induzidas pelo som	46
4.4 Correlações entre os dados	51
5 DISCUSSÃO	55
5.1 Perfil dos proprietários e manejo dos animais.....	55
5.2 Variabilidade do Intervalo Cardíaco (VIC) e o estresse sonoro agudo	59
5.3 Análise das reações comportamentais induzidas pelo som	61
5.4 Correlações entre dados.....	62
5.5 O Modelo de Estresse Sonoro Agudo em Cães	63
6 CONCLUSÕES.....	65
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
8 ANEXOS	77
ANEXO 1: Ficha geral de cadastro	77
ANEXO 2: Ficha Neurológica	81
ANEXO 3: Ficha de avaliação de Fobia	83
ANEXO 4: Folder de divulgação.....	85
ANEXO 5: Termo de Consentimento	86

1 INTRODUÇÃO

Situações de estresse e medo fazem parte da vida de todos os animais, e as reações fisiológicas, provocadas por elas, são essenciais para sobrevivência no meio selvagem, mas também na vida urbana, para aqueles animais que foram domesticados, acompanhando o homem em sua caminhada de vida em sociedade.

A espécie canina foi a que mais se envolveu com o homem, tornando-se um animal doméstico e dependente de cuidados, sendo alvo de problemas sociais, ambientais e de saúde pública, quando abandonados, ou em vida livre pelas cidades e comunidades.

Essa relação, criada ao longo dos tempos entre os cães e o homem, trouxe para os dias atuais, um vínculo afetivo de ambas as espécies, modificando e até selecionando através das raças, o comportamento canino, acentuando características que podem estar influenciando a forma dos cães de lidar com as situações de estresse e medo no cotidiano.

A fisiologia do comportamento regula-se baseada nos estímulos externos aos quais o animal está sujeito, conforme suas necessidades de sobrevivência, e até de bem estar. Dessa forma, o estresse vem a ser responsável por modelar o comportamento de um indivíduo conforme seu modo de vida e sua exposição a esses estímulos.

O estresse como mecanismo de adaptação a situações adversas é extremamente importante na manutenção da vida pois, sem esse mecanismo, qualquer situação desfavorável poderia causar morte imediata, sendo a capacidade de responder, rapidamente, a uma situação de perigo, uma importante característica da evolução dos seres.

Mais especificamente, em situações de estresse o organismo de um indivíduo redistribui sua energia e, o sistema locomotor e sensorial são priorizados em detrimento de outros (reprodutivo, digestivo e imune), fazendo, assim, com que a resposta momentânea seja eficiente. O problema começa, quando há a persistência destas situações, e ou dessas respostas, causando prejuízo aos sistemas deprimidos.

A influência dos estímulos sonoros tem demonstrado importância clínica na espécie canina, já que leva diversos indivíduos a sofrerem alterações comportamentais e

neuroendócrinas, que podem evoluir para graves distúrbios comportamentais e fisiológicos, como a fobia. Em alguns casos de estresse crônico severo, podem ocorrer danos neurais, doenças gastrointestinais, além da diminuição da resposta imune.

A fobia é descrita como um medo acentuado, irracional, persistente e excessivo, claramente discernível de objetos, seres, lugares ou situações, de forma desproporcional e exagerada, acompanhada de comportamento de fuga, esquiva, antecipação e intenso sofrimento que, geralmente, não envolvem uma ameaça imediata para a homeostase fisiológica, mas que leva o indivíduo a um estresse agudo com respostas condicionadas ao medo, coordenadas pelo sistema límbico, que atua ativando, entre outros sistemas, o eixo Hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) na liberação de glicocorticoides, e o sistema nervoso simpático.

Na fobia, os limiares de ativação dos circuitos neurais de medo estão reduzidos, podendo ser observado no indivíduo, clara hiperexcitabilidade, hipervigilância, e aumento da responsividade comportamental aos estímulos. Idealmente, os graus de ativações seriam proporcionais à ameaça e uma adaptação à situação normalizaria a resposta de estresse, diminuindo-a conforme a ameaça desaparecesse, o que não ocorre na fobia.

Os critérios para o diagnóstico de fobia, em humanos, costumam usar termos que se referem a sintomas emocionais, envolvendo sentimentos e estados de consciência subjetivos, o que dificulta a abordagem científica, e clínica nos animais. Porém, as alterações dos parâmetros comportamentais e fisiológicos dos sistemas neuroendócrinos, envolvidos nesses distúrbios, são um caminho de estudo e pesquisa.

Dessa forma, os níveis de estresse podem ser avaliados, através da mensuração de parâmetros fisiológicos e comportamentais. Em várias espécies o parâmetro mais utilizado é a dosagem de cortisol. Além desse, a análise da variabilidade do intervalo cardíaco (VIC) vem se mostrando um parâmetro importante e não invasivo para avaliar o balanço simpato-vagal em indivíduos submetidos a estímulos, potencialmente, desafiadores. As alterações comportamentais analisadas em conjunto com as análises citadas a cima formam uma importante fonte de dados, ainda não correlacionadas nos estudos mais recentes.

Contudo, o presente estudo teve como objetivo avaliar as respostas autonômicas e comportamentais induzidas pelo estresse sonoro agudo em cães de companhia, com

histórico de fobia a sons de trovão e fogos de artifício. O modelo de estresse utilizado consiste em um método não invasivo e seguro, uma vez que cada animal foi submetido a um estímulo sonoro (sons de trovão e fogos de artifício) de curta duração (2,5 min), a uma intensidade sonora máxima de 103,9 dB, não sendo capaz de causar efeitos deletérios para a audição dos animais.

Para tal, foram utilizados 28 cães de diversas raças, dos quais 16 eram historicamente fóbicos a sons de trovão e fogos de artifício e, 12 não apresentavam qualquer sinal de medo a esses sons. Os animais foram divididos ainda entre submetidos ao som de trovão e, submetidos ao som de fogos de artifício.

Foram avaliados o balanço simpato-vagal através da mensuração da VIC e 14 parâmetros comportamentais, além da coleta de amostras sanguíneas, em 6 momentos para posterior análise dos níveis séricos de cortisol.

1.1 Justificativa

Animais e humanos são constantemente submetidos a situações de estresse no seu cotidiano. Em cães vários estímulos podem ser considerados geradores de estresse, e sons de trovão, e fogos de artifício têm se mostrado estímulos estressores importantes devido à frequente ocorrência de fobia a esses sons nesta espécie.

O tema escolhido é de grande importância na atualidade, uma vez que são necessárias mais pesquisas sobre o efeito do estresse em humanos e animais. Neste sentido, a avaliação dos parâmetros fisiológicos, em situações de estresse, é uma forma de estudar e compreender melhor os distúrbios relacionados ao estresse e traçar novos caminhos terapêuticos.

É relevante para a Medicina Veterinária e para a área de saúde, como um todo, pois modelos de estresse sonoro agudo podem ser úteis na verificação da reatividade ao estresse, além de serem pouco invasivos e de relativa fácil execução.

1.2 Objetivos

1.2.1 Geral

- Verificar as respostas fisiológicas ao estresse sonoro agudo em cães de companhia, com histórico de fobia a sons de trovão/fogos de artifício.

1.2.2 Específicos

- Avaliar o perfil socioeconômico dos proprietários, as características gerais e comportamentais e o manejo dos animais em cães de companhia, com histórico de fobia a sons de trovão/fogos de artifício.
- Avaliar a resposta autonômica, a partir da análise espectral da variabilidade do intervalo cardíaco de cães de companhia, com histórico de fobia a sons de trovão/fogos de artifício submetidos a um modelo de estresse sonoro agudo.
- Avaliar a resposta comportamental de cães de companhia, com histórico de fobia a sons de trovão/fogos de artifício, submetidos a um modelo de estresse sonoro agudo.
- Avaliar se há correlação entre o comportamento dos animais relatado pelos proprietários, durante a ocorrência natural de trovões ou fogos e os comportamentos exibidos pelos cães, em resposta ao modelo de estresse sonoro em laboratório.
- Avaliar se há correlação entre parâmetros autonômicos e comportamentais em cães de companhia, com histórico de fobia a sons de trovão/fogos de artifício, submetidos a um modelo de estresse sonoro agudo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Estresse

O fisiologista Claude Bernard em 1872, definiu o conceito de meio interno pela primeira vez, como um princípio do equilíbrio dinâmico do meio interno essencial para a sobrevivência (FRANCI, 2005).

Apesar disso, foi Walter Canon, em 1929, o responsável por definir esse conceito da condição de equilíbrio do meio interno, criado por Claude Bernard com o termo homeostase. Além de ter reconhecido os agentes desafiadores da homeostase como físicos e emocionais, e elaborado o conceito de “reação de emergência”, que ocorre quando há um desafio capaz de ativar a liberação de noradrenalina de terminais nervosos simpáticos e adrenalina da medula da adrenal (FRANCI, 2005).

E, mais recentemente, entre 1946 e 1976, o fisiologista canadense Hans Selye definiu “a situação gerada pelo desafio ao qual um organismo estaria submetido” com o termo estresse. E, ao ocorrerem controvérsias conceituais, uma vez que não se podia distinguir a causa do efeito, ele criou o termo estressor, para designar o agente causador (estímulo) e manteve o termo estresse, para designar a condição gerada pelo estímulo desafiador (FRANCI, 2005).

A resposta a um estímulo estressor é fundamental para a homeostase de um ser vivo e sua sobrevivência. Nas condições de estresse, o organismo reage por meio da ativação e desativação do mecanismo de controle de várias funções, para recuperar e manter a homeostase. No entanto, essas respostas podem ser insuficientes para restabelecer ou manter a homeostase, ou podem ser exageradas, representando risco de doenças. Portanto, o estresse pode ser definido como a soma de respostas físicas e mentais, causadas por determinados estímulos externos e que permitem ao indivíduo superar determinadas exigências do meio-ambiente (FRANCI, 2005).

A reação de estresse maximiza o gasto de energia que ajuda a preparar o corpo para atender a uma situação ameaçadora ou desafiadora em que o indivíduo tende a mobilizar um grande esforço a fim de lidar com o evento. No entanto, enquanto uma certa quantidade de estresse é necessária para a sobrevivência, o estresse prolongado pode afetar adversamente a saúde (BERNARD & KRUPAT, 1994).

Em situações de estresse, ocorre a ativação de duas principais vias: o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), através do aumento da produção de cortisol e o sistema nervoso simpático, através da liberação de catecolaminas (Noradrenalina/ Adrenalina).

A desregulação de qualquer um desses sistemas de estresse pode levar a distúrbios fisiológicos de vários outros sistemas, incluindo os sistemas imunológico, cardiovascular, função metabólica e comportamento, levando a má adaptação da resposta ao estresse (MARQUES et al., 2010).

2.2 Fisiologia do estresse

Os estímulos estressores podem ser definidos como aqueles que desafiam a homeostase. Esses estímulos geram respostas que variam de acordo com a duração e intensidade e, ainda com a predisposição genética e experiências prévias do indivíduo.

Os estímulos causadores de estresse podem ser classificados em quatro grupos: estressores físicos e químicos (calor, frio, barulho, radiação intensa e substâncias tóxicas); psicológicos (medo e frustração); sociais (um ambiente hostil e rompimento de relações) e os que alteram a homeostase vegetativa, como em casos de exercício intenso e hemorragias. Quanto à duração, os estímulos causadores de estresse podem ser ainda classificados como agudos ou crônicos (PACÁK & PALKOVITS, 2001).

Moberg (2000) propõe um modelo para compreensão do estresse em toda espécie animal, que sugere uma resposta biológica ao estresse, a partir de três estágios gerais:

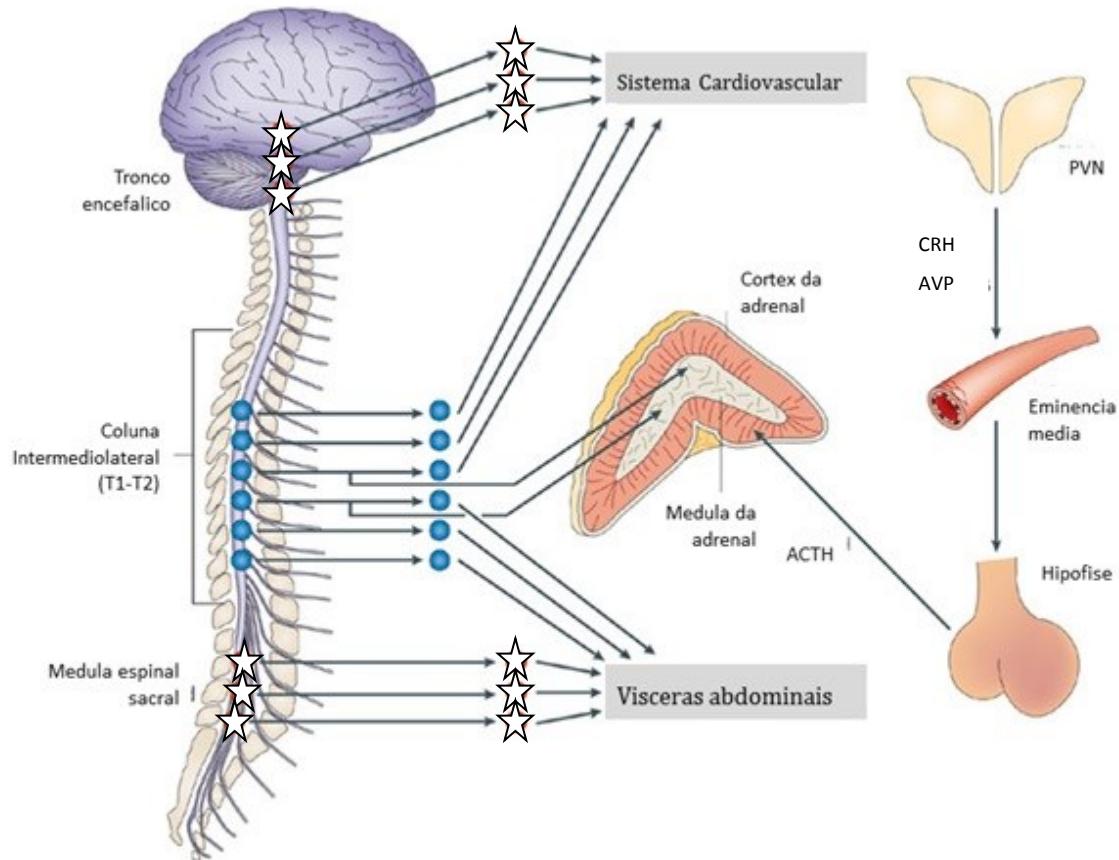
- 1º O reconhecimento de um estímulo estressante
- 2º A defesa biológica contra o estímulo estressante
- 3º As consequências da resposta de estresse

Esta resposta ao estressor irá abranger aspectos cognitivos, comportamentais e fisiológicos (MARGIS et al, 2003).

Em uma situação de estresse, são ativados o sistema simpato-adrenomedular gerando o aumento da secreção de catecolaminas e, logo, excitação rápida do sistema cardiovascular, ocasionando um aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial. E

o outro eixo ativado é o hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) levando ao aumento na produção de cortisol e naturalmente mobilização de energia (ULRICH-LAI & HERMAN, 2009) (Figura 1).

As respostas de emergência ativadas pelo SAM ocorrem quando o organismo se prepara para a defesa ou ataque, excretando adrenalina. Então o suprimento de sangue é desviado para os músculos, havendo elevação do débito cardíaco total e da redistribuição sanguínea, aumentando a oferta de nutrientes e oxigênio para as estruturas vitais. A pressão arterial se eleva e os bronquiolos se dilatam, tornando a respiração mais rápida e profunda para retirada do dióxido de carbono excedente. As funções digestivas e secretórias diminuem, além da reação de alívio com a liberação de qualquer excesso da bexiga e intestino. A taxa metabólica aumenta e a liberação de endorfinas diminui a sensibilidade à dor, e os sentidos são mantidos em estado de alerta. (ROGERSON, 1997).



Nature Reviews | Neuroscience

Figura 1: Ativação do SAM e do eixo HHA. A ativação do sistema simpato-adrenomedular (SAM) e do eixo do hipotálamo hipófise adrenal (HHA), como sistemas primários para a manutenção e restabelecimento da homeostase. A exposição ao estressor resulta em ativação de neurônios pré-ganglionares simpáticos na coluna intermediolateral da medula espinhal toracolombar (T1 a L2). Estes neurônios pré-ganglionares se projetam para gânglios pré e para vertebrais que então terminam em órgãos alvo e nas células cromafins da medula da adrenal. Esta ativação simpática (em círculos) representa a resposta clássica de luta e fuga, que foi primariamente caracterizada por Walter Cannon e colaboradores no início do século passado e leva a um aumento dos níveis de adrenalina (proveniente da adrenal) e de noradrenalina dos terminais simpáticos, aumento da frequência e da força de contração do coração, vasoconstrição periférica e mobilização de energia. O tônus parassimpático também é mobilizado durante o estresse. No sistema parassimpático (em estrelas), representa a ativação de núcleos pré-ganglionares crânicos-sacrais ativam núcleos pós-ganglionares localizados próximos aos órgãos inervados, com efeito geralmente oposto ao sistema simpático. Para o eixo HHA, a exposição ao estressor ativa neurônios hipofisiotróficos no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) que secretam hormônios de liberação, como hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e vasopressina (AVP) na circulação porta da eminência média. Estes hormônios liberadores atuam na hipófise anterior para promover a secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) que atua no córtex da adrenal (zona fasciculata) para iniciar a síntese e liberação dos hormônios glicocorticóides. Os glicocorticóides circulantes promovem a mobilização de energia estocada e potencializam numerosos efeitos simpáticos, como a vasoconstrição periférica. Além disso, o córtex da adrenal é diretamente inervado pelo sistema simpático, que regula a liberação de glicocorticóides. Então a ativação do sistema simpático e do eixo HHA tem ações complementares no organismo, incluindo a mobilização de energia e a manutenção da pressão arterial durante o estresse (Adaptado de ULRICH-LAI & HERMAN, 2009).

As respostas ao estresse que envolvem emoção passarão por avaliação afetiva, onde a informação será processada e interpretada para se estimar o potencial de ameaça. Esta avaliação afetiva irá determinar o padrão de respostas e o tipo de defesa, de acordo com a história pessoal, aprendizado e experiências prévias do indivíduo, que então fará a avaliação da capacidade para lidar com a situação e organização da resposta (MARGIS et al, 2003).

A intensidade da resposta é que determina se o animal está sofrendo de estresse ou é, meramente, experimentado um episódio breve em sua vida, sem nenhum impacto significativo ao seu bem-estar.

Circuitos neurais espinais e supra espinais estão envolvidos nas respostas de estresse. Os supra espinais processam as informações vindas das vias somatossensoriais e viscerossensoriais e elaboram as respostas através do tálamo, hipotálamo, área pré-optica, estruturas límbicas e sistemas aminérgicos e não aminérgicos do tronco cerebral.

Os neurônios do PVN secretores de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) e vasopressina, com os neurônios catecolaminérgicos do locus coeruleus (LC) (o núcleo com maior densidade de neurônios noradrenérgicos, com papel fundamental no desencadeamento da resposta ao estresse e reações de fuga) inervam o hipocampo, a amígdala e o neocortex, além de núcleos do rafe (5-HT) e grupamentos celulares da medula e ponte, compondo assim, um dos principais reguladores centrais de resposta ao estresse na ativação do eixo HHA e SNS (FRANCI, 2005).

O eixo HHA é ativado por diferentes categorias de estresse como: traumático, inflamatório e psicológico. E o estresse psicológico tem regulação por estruturas límbicas, que exercem atividade modulatória sobre o eixo (ULRICH-LAI & HERMAN, 2009).

O PVN monitora sinais relacionados com o estado emocional através de sinais metabólicos como a composição plasmática. O CRH o principal neurotransmissor coordenador das alterações psicológicas e comportamentais relacionadas ao estresse, é sintetizado no PVN e liberado nos capilares da eminência média, juntamente com a vasopressina (AVP) e alcançam diretamente a hipófise anterior, via circulação portal hipotalâmica-hipofisária, que por sua vez estimula na hipófise a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) (MORMÈDE et al., 2006).

O ACTH é sintetizado por células especializadas da hipófise anterior, vai para a corrente sanguínea e estimula o córtex da glândula adrenal (na zona fasciculada) que sintetiza o glicocorticoide através de esteroides derivados do colesterol. . O cortisol é o glicocorticóide ativo do eixo para cães, gatos e humanos, e a corticosterona para pássaros e roedores (MORMÈDE et al., 2006).

Esse hormônio final, do eixo HHA, interage com as células, através da ligação a dois receptores: o receptor glicocorticoide (GR) e o receptor de mineralocorticoide (MR). O receptor GR é encontrado na maioria dos tecidos do corpo, incluindo a maioria das áreas do encéfalo. No rim e em outros tecidos a aldosterona liga-se ao MR durante a regulação da reabsorção de sódio, mas o MR também está presente no hipocampo, onde ocorre a ligação do cortisol. Estes complexos esteróide-receptores, então, interagem com o DNA, para iniciar ou para reprimir a transcrição de genes específicos, a fim de regular a síntese de proteínas que provoca alterações fisiológicas em resposta ao estresse.

O cortisol tem 10 vezes mais afinidade ao MR que ao GR. Em níveis baixos, ou em situações de ausência de estresse, a maior parte do cortisol liga-se aos MRs no cérebro (principalmente no hipocampo) e modula a atividade basal do eixo HHA e o aparecimento de resposta ao estresse. Com a elevação dos níveis de cortisol, ocorre um aumento de ligações nos receptores GR, reduzindo a atividade do eixo HHA (mecanismo de “feed-back” negativo). No entanto, a ativação crônica deste receptor está ligada a vários distúrbios cognitivos relativos ao estresse (DE KLOET et al., 1999).

Proteger o organismo de possíveis danos é um dos papéis principais das respostas hormonais a situações de estresse. E seus principais hormônios são a adrenalina de secreção rápida pelo envolvimento na reação de luta ou fuga, e o corticosteróides na restauração e na reparação dos sistemas agindo na segunda linha de defesa regulando as respostas, inflamatória e imune (MC EWEN, 2000).

2.3 Variabilidade do Intervalo Cardíaco Durante o Estresse

2.3.1 Regulação autonômica da atividade cardíaca

O Nodo Sinoatrial (NS) apresenta a frequência de disparo mais intensa no coração estimulando outros locais, como os nodos atrioventriculares que, principiam seus próprios impulsos elétricos. E com a ausência de influências hormonais ou neurais, a frequência cardíaca (FC) permanece equivalente à frequência de disparos do NS, ou seja, constante (STAUSS, 2007).

Os sistemas nervoso simpático (SNS) e parassimpático (SNP) estão, constantemente ativados regulando a atividade cardíaca, com a predominância de um ou outro conforme a situação. Em repouso a predominância é vagal, o que em humanos leva a respostas rápidas de no máximo 5 segundo na FC, diminuindo-a em poucos batimentos. Já as respostas da ativação simpática, ocorrem após cinco segundos, aumentando progressivamente, chegando a sua resposta máxima de aumento da FC após 20 a 30 segundos (HAINSWORTH, 1995).

No entanto, os sistemas simpático e parassimpático atuam de forma simultânea na regulação da atividade cardíaca, onde o aumento da atividade vagal não resulta tão logo na redução da atividade simpática e vice-versa (VON BORELL et al., 2007).

Quando o SNS é ativado, as fibras nervosas promovem a descarga de noradrenalina (NA) nos átrios e ventrículos, que por sua vez, juntamente com a adrenalina liberada pela adrenal, estimula os receptores β_1 adrenérgicos presentes no coração, ativando através de uma proteína G excitatória (Gs) a enzima adenilato ciclase (AC) à produzir AMPc. Seu aumento intracelular leva à ativação da proteína quinase dependente de AMPc, aumentando as correntes de canais iônicos de Ca^{+2} e Na^{+} , acelerando a velocidade de despolarização, levando ao aumento da frequência de disparo de potenciais de ação das células do NA, desencadeando o aumento da frequência cardíaca (CURI & PROCOPIO, 2009).

Do mesmo modo, o miocárdio atrial, o nodo átrio-ventricular e o NS, são inervados pelas fibra nervosa parassimpática dos nervos vagos, liberando acetilcolina (ACh) ativando receptores M2, que estão acoplados a uma proteína G inibitória (Gi) inibindo a síntese de AMPc intracelular, reduzindo a atividade da PKA. Além de a ACh ativar uma corrente de efluxo de K^{+} gerando uma hiperpolarização da membrana, levando ao aumento do limiar de ativação do potencial de ação sinusal, o que reduz a

frequência de disparo de potenciais de ação das células sinusais, diminuindo por fim a frequência cardíaca (CURI & PROCOPIO, 2009).

Existem diferenças no tempo de resposta da ativação dos ramos simpático e parassimpático, que ocorrem em certo modo pela liberação lenta de noradrenalina nos terminais nervosos simpáticos, e pelas fibras pré-ganglionares vagais serem mielinizadas, contribuindo para uma transmissão elétrica mais rápida. Além das diferenças anatômicas entre os ramos, como é o caso dos corpos celulares pré-ganglionares do parassimpático, localizados dentro do coração, enquanto que os corpos celulares pré-ganglionares simpáticos se localizam no gânglio paravertebral (VON BORELL et al., 2007).

2.3.2 A Análise espectral da Variabilidade do Intervalo Cardíaco (VIC)

A manutenção da homeostase do sistema cardiovascular é resultado da oscilação rítmica de componentes regulatórios da atividade cardíaca, onde se observa intervalos irregulares de tempo entre os batimentos consecutivos (VON BORELL et al., 2007).

A análise da variabilidade do intervalo cardíaco pode ser realizada através dos índices no domínio do tempo e da frequência.

No domínio do tempo, cada intervalo entre um batimento cardíaco e outro pode ser medido em milissegundos, e no domínio da frequência as flutuações rítmicas podem caracterizar os estados de repouso e atividade, influindo na série cronológica contida entre os intervalos, tornando possível a mensurar a atividade do SNA (HOSHI, 2009; SONG et al., 2006).

Os dados são obtidos através da gravação dos intervalos entre batimentos cardíacos, feitos por frequencímetros capazes de detectar em milissegundos (ms) o tempo entre os batimentos e armazená-los (LOMBARDI, 1997; VON BORELL et al., 2007).

A técnica utilizada com esse objetivo é chamada de análise espectral e consiste no uso de algoritmos matemáticos, como é o caso da transformada rápida de fourier (FFT), para obter diagramas dimensionais. Dispondo em um gráfico os componentes oscilatórios de frequência da VIC no eixo X e a amplitude dos componentes oscilatórios no eixo Y, permitindo através dessa técnica, determinar a força espectral das frequências baixas e altas da VIC.

Nesse contexto, os dois Sendo assim, os dois componentes de frequência principais são divididos através da análise espectral em Frequência baixa (LF), caracterizado pelo espectro de 0,04 a 0,15Hz e Frequência alta (HF), situada na faixa de 0,15 a 0,4 Hz na análise espectral (KAWASE et al., 2002; VON BORELL et al., 2007; PICCIRILLO et al., 2009).

Quando os IRR são dispostos em uma escala de tempo, um gráfico é confeccionado e as oscilações formadas representam a ação dos diferentes componentes regulam os pulsos cardíacos, onde as frequências mais altas representam a atividade rítmica resultante da ativação parassimpática e as mais baixas exibem aquelas resultantes da atividade simpática (LOMBARDI, 1997; VON BORELL et al., 2007) (Figura 2).

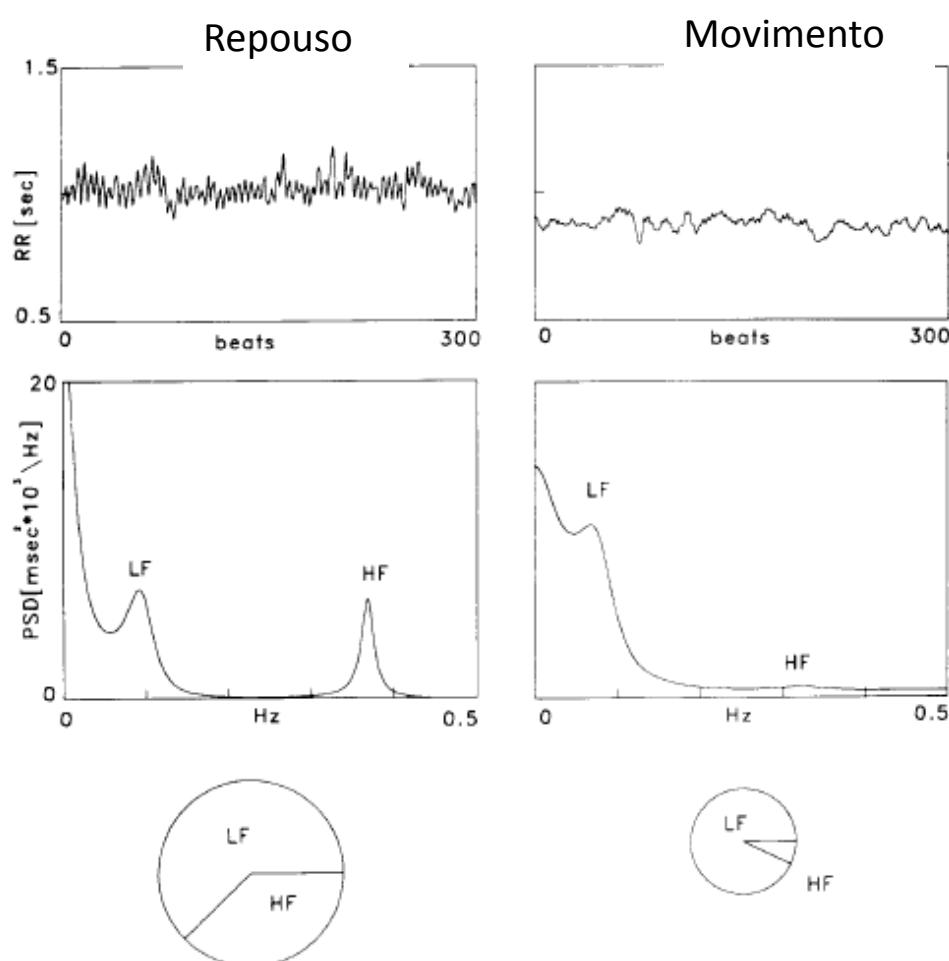


Figura 2: Análise espectral da VIC. Variabilidade do intervalo cardíaco em um indivíduo jovem durante o repouso e quando em movimento. A série temporal de intervalos RR está

disposta nos gráficos do topo. Os gráficos centrais ilustram a presença de dois componentes principais da densidade espectral: LF e HF. Durante o movimento o componente LF se torna predominante em relação ao repouso. Os gráficos na base da figura demonstram a distribuição relativa dos dois componentes (representada pela área) (MALLIANI, 1997).

A razão entre os dois componentes de frequência é calculada a partir dos valores obtidos de LF e HF, resultando em valor que representa o balanço entre a atividade simpática e parassimpática, além de possibilitar a decomposição dos componentes espetrais, através do cálculo das frequências centrais desses componentes, que se situam implícitos, no sinal da variabilidade (PAGANI et al., 1986; LOMBARDI et al., 1996; LOMBARDI, 1997; MALLIANI et al., 1997; VON BORELL et al., 2007; HARADA et al., 2005).

A análise espectral da VIC não acessa o tônus autonômico cardíaco, mas sim o seu balanço, o que justifica a ocorrência de alterações na capacidade do coração de responder a esses estímulos, quando há alterações crônicas na atividade autonômica. Nesses casos, não seria aplicável a análise espectral da VIC (STAUSS, 2007; PICCIRILLO et al., 2009).

Deste modo a análise espectral da VIC, tem como principal utilidade a função de indicadora da atividade autonômica, em resposta ao estresse psicológico e físico (VON BORELL et al., 2007). E quando é aplicada no estudo das alterações agudas da atividade autonômica cardíaca, essa análise é utilizada de maneira a obter dados fidedignos, onde diante de uma resposta ao estresse psicológico pode ser observado um aumento agudo na atividade cardíaca simpática, caracterizado pelo aumento do componente LF com provavelmente baixa ou nenhuma alteração do componente HF (STAUSS, 2007).

2.4 Estímulo Sonoro em Cães

O órgão auditivo dentre outras funções se caracteriza especialmente por seu desempenho no reconhecimento de situações ameaçadoras, estando em funcionamento ininterrupto através da conexão direta do ouvido interno com os mecanismos neurais de “luta ou fuga”. Esse sistema é capaz de diferenciar sons de frequências e intensidades relevantes para a sobrevivência do indivíduo em seu meio ambiente (WESTMAN & WALTERS, 1981).

A percepção do som colabora no balanço homeostático do sistema nervoso central, influenciando consequentemente o equilíbrio fisiológico de forma geral através dos centros autonômicos e neuroendócrinos do hipotálamo, variando em resposta conforme o significado do estímulo sonoro e sua intensidade, previsibilidade, variabilidade e complexidade.

Nesse contexto as respostas fundamentais ao som são de orientação, reflexo de surpresa e de defesa. Sendo a resposta de orientação fundamental por ser a reação comportamental de busca pela fonte sonora, permitindo que o indivíduo se prepare para a resposta necessária e caso o reconhecimento do som mostre ser esse de baixa significância a habituação irá ocorrer, diminuindo o grau da reação.

Já o reflexo de surpresa irá ocorrer em resposta a sons repentinos de alta intensidade e caráter assustador, podendo ser atenuado quando o indivíduo sabe que ele irá ocorrer, e podendo ser exacerbado em situações de tensão, medo e de abalo emocional.

E a resposta de defesa acontece em resposta a sons de significado, intensidade e duração relacionados à ameaça, onde há excitação emocional e preparação dos sistemas para a ação, consistindo na resposta de estresse (WESTMAN & WALTERS, 1981).

Alguns sons adquirem significado particular para o indivíduo, representando perigo em potencial, assim como, os sons de características ameaçadoras. Mas geralmente o significado conotativo de um som potencialmente ameaçador, está no fato de ser desconhecido e apresentar mudanças rápidas de intensidade além das associações extra-auditivas relacionadas a ele. Além disso, a previsibilidade desse estímulo sonoro, também poderá constituir um fator determinante na resposta, já que sons imprevisíveis caracterizam-se como um estímulo estressor maior, desencadeando uma redução geral de performance e uma baixa tolerância a frustrações (WESTMAN & WALTERS, 1981).

Os cães particularmente apresentam muita sensibilidade a estímulos sonoros, visto que seu sistema auditivo é extremamente desenvolvido, especialmente com a função de caça e guarda. Porém a resposta de defesa exacerbada dos indivíduos dessa espécie tem sido relatada principalmente aos sons de fogos de artifício, trovão e tiro de

armas de fogo. Provavelmente o caráter imprevisível, a conotação negativa que a espécie apresenta a esses sons e a intensidade próxima ao limiar de audição, possa justificar tal reação (HYDBRING et al., 2004).

E é com base nessa reação desmedida que os estímulos sonoros como os sons de trovão e fogos de artifício vêm sendo utilizados como modelos de estresse em cães (HYDBRING et al., 2004; ENGELAND et al., 1990). Representando uma opção para o estudo da reatividade ao estresse que pode ser comparada ao modelo de estresse acústico de sobressalto em ratos.

2.5 Alterações comportamentais em cães

Ao iniciar um estudo a respeito de uma espécie, deve-se ter em mente que cada sujeito analisado não é um sistema inerte e fechado, mas sim um somatório de eventos que possibilitam ter um exame mais amplo e completo das interações do animal com o ambiente (SULTAN, 2003; BATESON et al., 2004).

Assim, o estudo comportamental se mostra uma importante ferramenta, pois permite entender que processos biológicos são compostos por eventos fisiológicos e psicológicos, não havendo exclusão entre eles, mas sim uma sobreposição com fortes correlações (HARVERBEKE et al., 2008; BEERDA, 1999; SPANGENBERG, 2006; MONTANHA et al, 2009). Conhecer a etologia canina irá permitir uma melhor utilização do animal, respeitando seus limites e possibilitando a manutenção física e mental dentro dos padrões de bem-estar da espécie (SNOWDON, 1999; DAWNKINS, 1989; DARWIN, 2004).

Com relação ao bem-estar, Broom & Johnson (1993) e Broom & Fraser (2010) definem como o estado de um animal em relação às suas tentativas de se adaptar ao meio em que vive. Para os animais domésticos, principalmente para os animais de companhia, esse é um conceito que muitas vezes pode ser confundido e mal aplicado pelo homem, à medida que esse, confronta a realidade do animal com a sua própria, passando a adequar parâmetros humanos a esses animais.

Os cães são marcados pela socialização baseada em relações familiares, com organizações flexíveis e respostas a um líder, além de possuírem necessidade de

ambientes complexos e variados, marcadamente importantes na vida gregária de seus ancestrais (BROOM & FRASER, 2010).

Pensando nisso, um manejo inadequado pode ter consequências que variam desde alterações comportamentais, a quadros patológicos, tendo como agravantes alterações substanciais nos seus níveis de bem-estar.

Porém, o estudo do comportamento animal ainda se mostra bastante pioneiro, já que as pesquisas científicas a nível clínico, começaram a ser realizados há poucas décadas em animais com problemas comportamentais.

Dessa forma, se faz presente a necessidade de um maior desenvolvimento de estudos e pesquisas nesse sentido, visto que os problemas comportamentais são apontados como a principal causa de abandono ou morte de animais de companhia, apresentando maior número de relatos, do que as doenças infecciosas, neoplásicas e metabólicas concomitantes (OVERALL et al., 2001).

A relação homem-animal é muito antiga, mas é pouco estudada. E isso faz com que o diagnóstico e o tratamento dos distúrbios comportamentais sejam dificultados.

Muitas vezes, a origem dos problemas comportamentais está ligada ao tipo de relacionamento existente entre o homem e o seu animal. E isso acontece porque os animais passam por processos de humanização para se adaptarem ao modo e ao estilo de vida do seu proprietário, nem que para isso tenham que modificar as suas características naturais (OVERALL et al., 2001).

Embora os cães apresentem uma flexibilidade comportamental, as exigências criadas pelos seus proprietários podem desencadear conflitos e frustrações que levam ao aparecimento de problemas comportamentais (OVERALL et al., 2001).

Com frequência, o stress ou a ansiedade estão relacionados com o ambiente e mostram que o limiar entre normal e anormal varia entre indivíduos (BEAVER, 2005).

O rompimento da homeostase pode resultar de estimulação interna, externa ou ambos. E o potencial de ruptura da homeostase aumenta com a magnitude do desafio, (APPLEBY & PLUIJMAKERS, 2004). Dessa forma sendo a fobia um transtorno de reações exageradas e desproporcionais ao real grau de importância do estímulo

estressor, podemos sugerir que o indivíduo fóbico é mais suscetível ao estresse, de forma geral, reagindo com parâmetros mais facilmente alterados.

2.6 Fobia em cães

Medo e ansiedade são funções adaptativas de sobrevivência que sinalizam para o organismo a presença de perigo, em potencial, no ambiente. O medo é a resposta imediata acionada por um evento, ou objeto potencialmente nocivo e ansiedade envolve processos cognitivos mais complexos, como antecipação e preocupação, com hipervigilância, diante de um perigo iminente no ambiente. (FEINSTEIN et al., 2011)

Entre as respostas comportamentais e fisiológicas clássicas imediatas do medo, destacam-se o congelamento, sobressalto, aumento da frequência cardíaca, alterações da pressão arterial e aumento da vigilância. São respostas comportamentais e perceptivas, que facilitam as respostas defensivas como a fuga e esquiva, de forma apropriada, afim de reduzir o perigo ou lesão (CHUDASAMA, 2009).

O neurocircuito do medo envolve principalmente a amígdala, estrutura cerebral responsável pela detecção, geração e manutenção das emoções relacionadas ao medo e ansiedade. É uma estrutura complexa pertencente ao sistema límbico, que consiste em aproximadamente 10 núcleos que coordenam respostas apropriadas à ameaça e ao perigo, através das respostas comportamentais, cardiovasculares e endócrinas ao estresse (ROSEN & SCHULKIN, 1998)

A amígdala faz ligações entre as áreas do córtex cerebral e recebe informações de todos os sistemas sensoriais, permite a integração da informação proveniente das diversas áreas, através de conexões excitatórias e inibitórias.

Os núcleos basolaterais são as principais portas de entrada da amígdala, recebendo informações sensoriais e auditivas, vindas do tálamo, córtex sensorial e associativo (Figura 3). Ele está sob tônica inibição GABAérgica, e quando bloqueada esta inibição, resulta em aumento do comportamento de ansiedade, com ativação cardiovascular simpaticamente mediada (KESSLER et al., 2005).

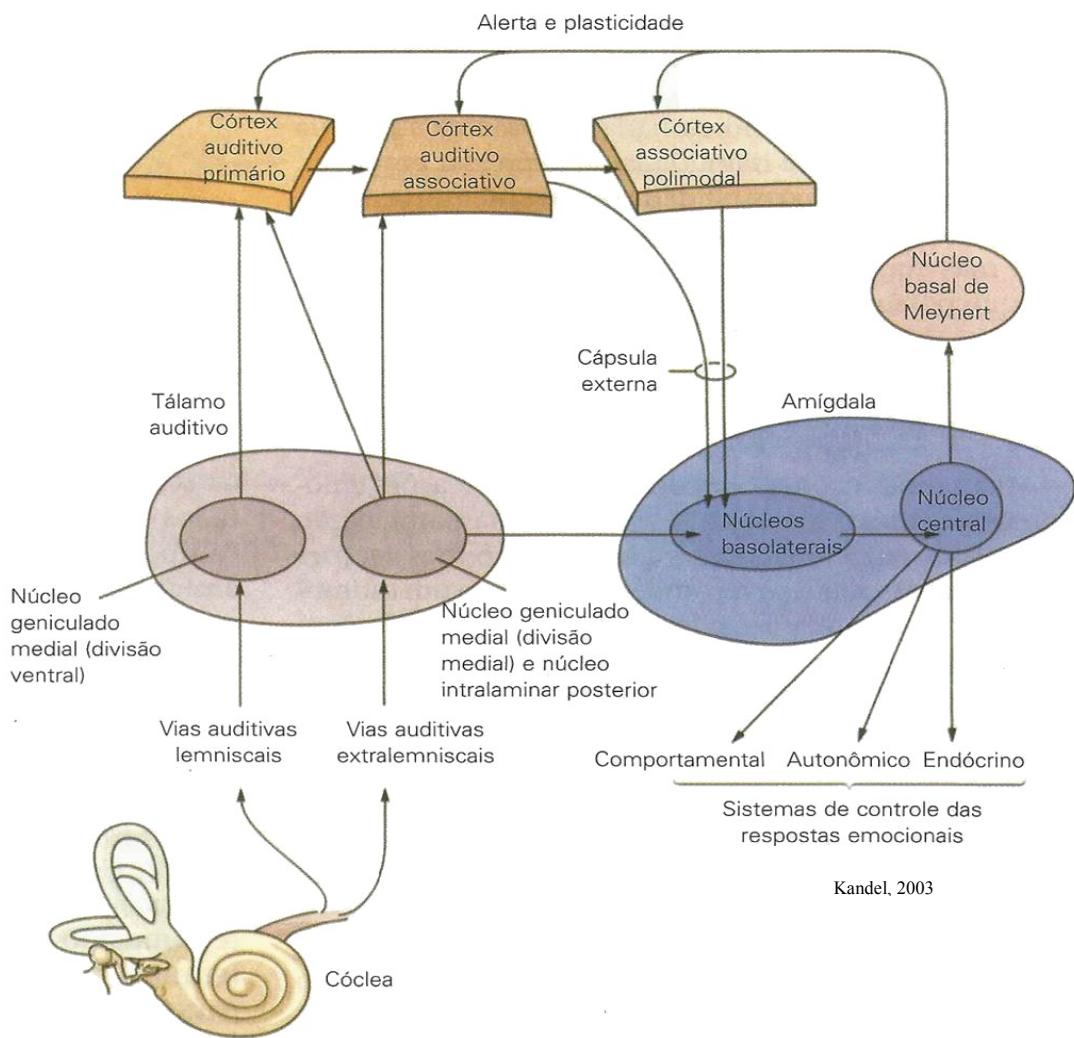


Figura 3: Vias envolvidas no processamento da informação emocional. A informação sensória é transmitida para o tálamo através da via leminiscal. A aferência auditiva chega na divisão ventral do núcleo geniculado medial e projeta-se para o córtex auditivo primário, enquanto outras vias, extra leminscrais, carreiam informações auditivas para outras partes do tálamo, como a divisão medial do núcleo geniculado medial e núcleos intralaminares posteriores, que se projetam, tanto para o córtex auditivo primário, quanto para o córtex auditivo associativo, assim como, para os núcleos basolaterais da amígdala. Essa via do tálamo para amígdala é implicada na aprendizagem emocional (IVERSEN et al., 2003).

A amígdala ventrolateral, em seres humanos, é mais sensível aos estímulos negativos (especialmente se os estímulos sinalizam informação negativa iminente). E a amígdala centromedial (CMA) dorsal tem projeções, principalmente, subcorticais, especialmente aquelas ligadas ao hipotálamo lateral e substância cinzenta periaquedatal (PAG). Essas projeções podem explicar, em parte, as respostas fisiológicas associadas ao medo, com o hipotálamo (Figura 4) (KESSLER et al., 2005).



Figura 4: Conexões diretas entre o núcleo central da amígdala e uma variedade de áreas hipotalâmicas e do tronco encefálico envolvidas no medo e na ansiedade (IVERSEN et al., 2003).

O Locus coeruleus, importante núcleo com grande densidade de neurônios noradrenérgicos com papel no desencadeamento da resposta ao estresse e das reações de fuga, tem também papel importante no controle do medo. A desregulação desse núcleo parece ter relação com o aparecimento do pânico e fobias em humanos (CHARNEY, 1984), certamente, através de sua ligação ao sistema límbico (CHARNEY, 1984).

Medos podem desenvolver-se gradualmente e pode haver variação na resposta. Em contraste, fobias geralmente se desenvolvem rapidamente e uma vez desenvolvidas, há pouca mudança em sua apresentação entre as séries. Situações indutoras de fobia, ou são evitadas, a todo custo, pelo fóbico, ou, se inevitável, são suportadas com intensa ansiedade e sofrimento (OVERALL, 2010)

A Associação Norte Americana de Psiquiatria no manual de diagnóstico e estatística de transtornos mentais (DSM-IV-TR, 2002) e, a CID-10 (1993), definem em humanos fobias específicas como medos irracionais, excessivos, acentuados e persistentes, revelados pela presença ou antecipação de um objeto, situação, ou atividade fóbica específica, de forma desproporcional, acompanhados de comportamentos de fuga, esquiva, antecipação ansiosa e intenso sofrimento.

Geralmente não envolvem uma ameaça imediata para a homeostase fisiológica, mas leva o indivíduo a um estresse agudo, com respostas condicionadas ao medo,

coordenadas pelo sistema límbico, que atua ativando, entre outros sistemas, o eixo HHA, e o Sistema Nervoso Simpático.

Em cães não há até o momento descrito na literatura uma definição oficial para tal transtorno.

As fobias são transtornos de ansiedade de difícil cura, e geralmente a memória de uma resposta fóbica pode desencadear outros transtornos de ansiedade. Dessa forma, o tratamento tem importância, não só pela questão do bem-estar e qualidade de vida, mas, também, devido a seus componentes de comorbidade (OVERALL, 2010).

Resposta exagerada a sons de trovão estão entre as doenças comportamentais mais comumente associados com pânico ou fobia em cães. Ocorre, geralmente, em todas as raças, embora não existam dados sobre a incidência relativa destes problemas (OVERALL et al., 2001; DUNHAM & FRANK, 2001; VOITH & BORCHELT, 1985).

A fobia à sons de trovão e fogos de artifício constitui uma classe que apresenta resposta extrema repentina e profunda e que apesar de existir uma variação considerável nas respostas dos cães (BEERDA, SCHILDER, VAN HOOFF, VRIES, 1997), no geral, se manifesta com comportamentos de ansiedade, associados com atividades acentuadas do sistema nervoso simpático. Os comportamentos podem incluir, catatonia ou mania concomitante, com diminuição da sensibilidade ou capacidade de resposta à dor, ou estímulos sociais, além de fuga, vocalização, salivação, micção, defecação, tremores, comportamentos autodestrutivos e até convulsões. (OVERALL, 2010; SHULL-SELCER & STAGG, 1991)

Já se sabe que existe um fator hereditário para esse tipo de fobia e embora os mecanismos, pelos quais ela ocorre, ainda não sejam compreendidos, parece estar em alguma alteração na forma como a informação é processada, entre a amígdala e o córtex (OVERALL, 2010).

E como ansiedade, medos e fobias são queixas comportamentais comuns e problemáticas dos donos de cães, a falta de tratamento pode resultar no rompimento do vínculo humano-animal e posterior abandono, desistência, ou até mesmo eutanásia do cão afetado (MILLS, et.al, 2003).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local de Execução do Trabalho Experimental

Os procedimentos experimentais foram realizados na Estação experimental de Parasitologia Veterinária do Departamento de Parasitologia Animal (DPA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e no Laboratório de Fisiologia Animal do Departamento de Ciências Fisiológicas (DCF) da UFRRJ. Todos os procedimentos estão de acordo com a lei de bem-estar animal, Instrução Normativa nº 56 de 2008. O presente experimento encontra-se aprovado pelo Comitê de Ética na Pesquisa da UFRRJ/ CEUA-IB, nº 23083.4796/2014-14.

3.2 Animais

Foram entrevistados 35 proprietários de cães entre os quais, foram selecionados 28 com 2 a 6 anos de idade, pesando de 10 a 30 Kg, dóceis, saudáveis, com vacinas e vermifugação em dia, do município de Seropédica-RJ.

Proprietários de animais com medo de sons de trovão e fogos de artifício interessados em participar do estudo e, proprietários de animais sem medo convidados a participar do estudo, inicialmente, responderam a um formulário de cadastro dos animais, contendo dados gerais e histórico de respostas comportamentais em geral (Anexo 1). Em seguida, os animais foram submetidos a um exame clínico básico que constituiu em inspeção, palpação, auscultação e termometria retal e um exame neurológico para descartar doenças concomitantes (Anexo 2). Foram dispensados animais arredios; agressivos; com peso ou idade fora da faixa estabelecida no critério de seleção e animais doentes. Os animais selecionados foram caracterizados como fóbicos e não-fóbicos a sons de trovão/fogos de artifício e então submetidos, uma única vez, ao modelo de estresse sonoro. A caracterização de animais fóbicos foi realizada conforme as respostas dos proprietários ao questionário de reações comportamentais aos sons de trovão e fogos de artifício (Adaptado de COTTAM & DOGMAN, 2009; CROWELL-DAVIS, 2003) (Anexo 3).

Meios de divulgação do estudo: através de folder e cartazes de divulgação do projeto, veiculado pela internet e afixado em diversos estabelecimentos veterinários no município e pela UFRRJ (Anexo 4).

Avaliação comportamental: através de entrevista com o proprietário (questionário adaptado de OVERALL, 1997) (Anexo 1)

3.2.1 Considerações éticas

A participação no estudo ocorreu somente com a autorização dos entrevistados mediante um termo de consentimento em que se garantia plena liberdade para interromper a participação, quando desejado (Anexo 5). Não houve riscos à saúde física ou mental dos animais que participaram do projeto.

3.2.2 Caracterização de fobia a som

Os cães foram selecionados para compor os grupos, conforme as respostas ao questionário comportamental, previamente preenchido pelo proprietário.

O questionário específico para medo de sons de trovão e fogos de artifício (Anexo 3) é composto de alguns parâmetros comportamentais comuns em cães fóbicos como: atitude destrutiva; eliminação inadequada; salivação excessiva; vocalização; esconder; passadas; arfar; procurar pelo proprietário; auto-trauma; tremor. Esses parâmetros foram ainda classificados em escala de 0 (comportamento nunca observado) a 5 (comportamento frequente e grave) (Adaptado de COTTAM & DOGMAN, 2009; CROWELL-DAVIS, 2003).

Os cães foram considerados aptos a participarem do grupo Fóbico/trovão e Fóbicos/fogos quando:

- Apresentaram, pelo menos, três dos comportamentos anteriores, durante o som de trovão ou fogos de artifício, com escore igual ou maior que 3, ou algum item com escore máximo (5)
- Ou as atitudes do animal no momento do som apresentaram risco a saúde e integridade física.
- E quando as respostas comportamentais foram apresentadas na maior parte do tempo durante o estímulo.

3.3 Procedimentos Experimentais

O protocolo experimental foi realizado individualmente, iniciando-se sempre às 9 horas da manhã. Um pesquisador, acompanhado de um pesquisador colaborador, realizou todo o protocolo experimental, sem se ausentar em nenhuma etapa do experimento.

Dias antes do experimento, os animais foram submetidos a um exame clínico e os proprietários responderam a questionários (Anexo 1 e 3), referentes ao manejo e comportamento do animal.

A partir dos dados dos questionários, os animais foram classificados conforme as respostas dadas referente ao medo de trovão e fogos de artifício entre animais com histórico comportamental de fobia a sons de trovão e fogos de artifício (Fóbicos) e animais historicamente não fóbicos a esses sons (Não-fóbicos).

No dia do experimento, cada animal foi submetido a inserção de um catéter de silicone endovenoso para coleta de sangue ainda em sua moradia (amostra 1: casa), e a colocação do frequencímetro (Polar Pro Trainer RS800CX). Os animais permaneceram com o frequencímetro durante todo o protocolo experimental.

Após a colocação do frequencímetro, os animais permaneceram no mesmo local por 10 minutos para adaptação ao frequencímetro e registro dos dados de VIC do momento basal 1 (casa). Em seguida, cada animal foi transportado para o laboratório, onde foi executado o modelo de estresse sonoro agudo. O transporte foi realizado acondicionando o animal numa caixa de transporte num carro de passeio, com ventilação adequada.

Após a chegada ao local do experimento, os animais permaneceram na sala sem manipulação e sem interação por parte dos pesquisadores, por 30 minutos, para registro dos dados de VIC do momento basal 2 (laboratório). Em seguida, foi coletada a segunda amostra de sangue (amostra 2: laboratório).

O estímulo sonoro consistiu numa gravação de sons de trovão e outra de sons de fogos de artifício numa intensidade sonora máxima de 103-104 dB e duração de 2 minutos e 30 segundos (MACCARIELLO, 2012).

Durante e após o fim do estímulo sonoro, cada animal permaneceu sem qualquer manipulação. A terceira coleta de sangue foi realizada 5 minutos após o término do estresse (amostra 3), a quarta aos 15 minutos (amostra 4), a quinta aos 30 minutos (amostra 5) e a sexta coleta aos 60 minutos, após o término do estresse (amostra 6).

A filmagem foi realizada durante todo o experimento para registrar as reações comportamentais.

Após a última coleta o polar foi retirado e o animal levado de volta para sua casa, no mesmo transporte e nas mesmas condições em que veio.

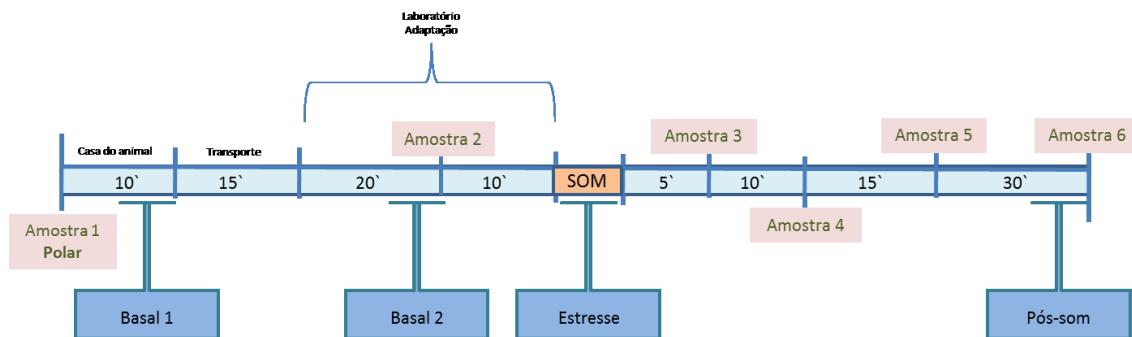


Figura 5: Esquema do protocolo experimental

3.3.1 Estímulo Sonoro

Os estímulos sonoros consistiram de uma gravação com duração de 2 minutos e 30 segundos de **sons de trovão** mixados, alternadamente, a partir de dois arquivos sonoros no formato wave (“*very loud thunder, close thunder crack*” e “*high quality stereo sound of a major thunder clap during a storm*”) e outra gravação de **sons de fogos de artifício** mixado de um arquivo sonoro no formato wave (“*continuous firework*”) adquiridos no endereço eletrônico <http://www.sound-effect.com>

O formato utilizado possui a vantagem de ser uma gravação que preserva todas as variações de frequência do som original. A intensidade do som foi padronizada através de um decibelímetro, modelo BK Precision 732A Sound Level Meters a 103-104 dB, por ser uma pressão sonora capaz de aumentar as concentrações de cortisol sérico em cães, estando abaixo dos limites que possam causar danos ao aparelho auditivo (ISING et al., 1999).

O estímulo sonoro foi emitido por um aparelho de som (Pioneer home theater DVD 120w RMS) com 5 caixas de som acopladas. Cada animal foi posicionado a um metro das caixas de som. Para observação das reações comportamentais, cada animal foi contido apenas por uma guia solta de 1,5 m, podendo reagir e se locomover naturalmente sem intervenções.



Figura 6: Cão no momento do som. Fonte: fotografia da autora.

3.4 Grupos experimentais

Vinte e oito cães foram submetidos ao modelo de estresse sonoro agudo sendo, ao todo, 16 fóbicos e 12 não fóbicos.

Os animais foram divididos entre os testes com sons de trovão e com sons de fogos de artifício.

Formando os grupos:

Não-fóbico/trovão: 6 cães considerados não fóbicos, submetidos ao modelo de estresse sonoro com som de trovão

Fóbico/trovão: 8 cães considerados fóbicos a sons, submetidos ao modelo de estresse sonoro com som de trovão

Não-fóbico/fogos: 6 cães considerados não fóbicos, submetidos ao modelo de estresse sonoro com som de fogos de artifício

Fóbico/fogos: 8 cães considerados fóbicos a sons, submetidos ao modelo de estresse sonoro com som de fogos de artifício

3.5 Coletas de sangue

As coletas de sangue foram realizadas através de catéter de silicone intravenoso 22g (azul), acoplado a uma seringa de 3 ml, e transportado para tubos sem heparina. As amostras foram acondicionadas sob refrigeração e ao final do experimento centrifugadas

na velocidade 4600 RPM por 15-20 minutos. O soro coletado de cada amostra foi acondicionado em 2 ependorffs, estocados em freezer a -20°C, até serem analisados.

3.6 Uso do Frequencímetro

Os IRR foram registrados através de frequencímetros, utilizando-se um sistema de gravação móvel (Polar® modelo RS800CX), ligados ao tórax dos cães por uma faixa elástica. A faixa possui dois eletrodos, sendo um posicionado na região précordial e o outro na posição contralateral (Figura 7). Foi aplicado gel condutor para garantir a condução adequada dos pulsos cardíacos. O transmissor do sistema permanece adaptado entre os dois eletrodos e capta seus sinais enviando-os para o relógio do equipamento, que armazena os dados.

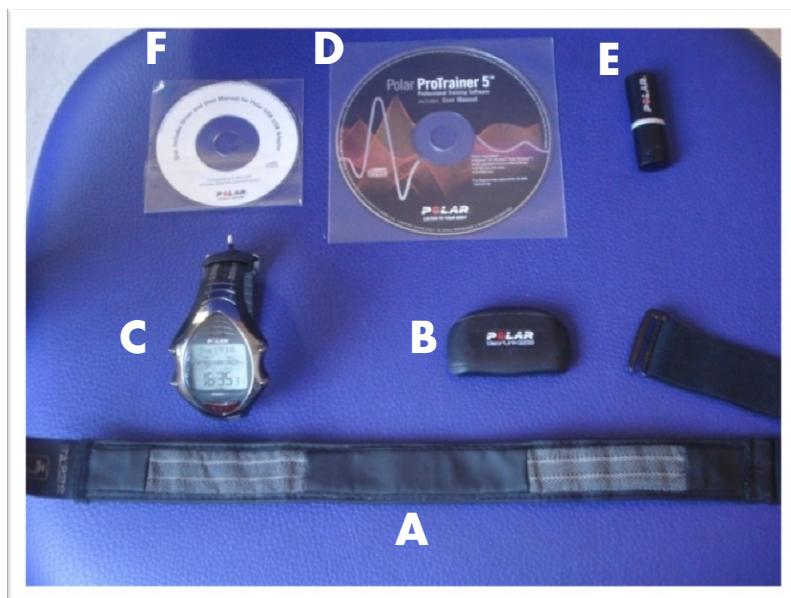


Figura 7: Componentes do Polar modelo RS800CX: A- faixa com frequencímetro, B- transmissor, C- relógio, D- manual e cd de instalação do programa Polar Protrainer 5, E- Driver Polar IrDA USB Adapter (interface de emissão de infravermelho), F- cd de instalação da interface de emissão de infra-vermelho. Fonte: acervo pessoal.

3.7 Análise Espectral da VIC

Os dados armazenados no relógio foram enviados para o programa Polar Pro Trainer 5® (Figura 8) por meio da interface de emissão de infravermelhos.

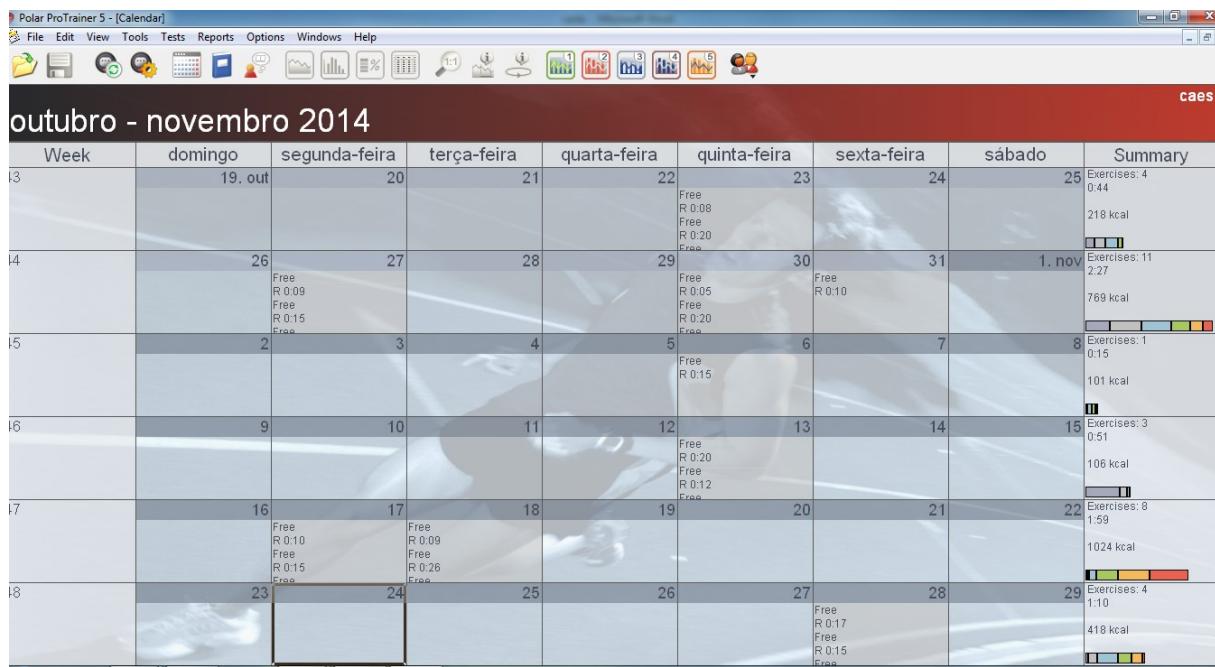


Figura 8: Tela inicial do programa Polar Pro Trainer 5®. Fonte: fotografia da autora.

Os dados obtidos foram dispostos num gráfico confeccionado a partir da FC (bpm) em razão do tempo (Figura 9).

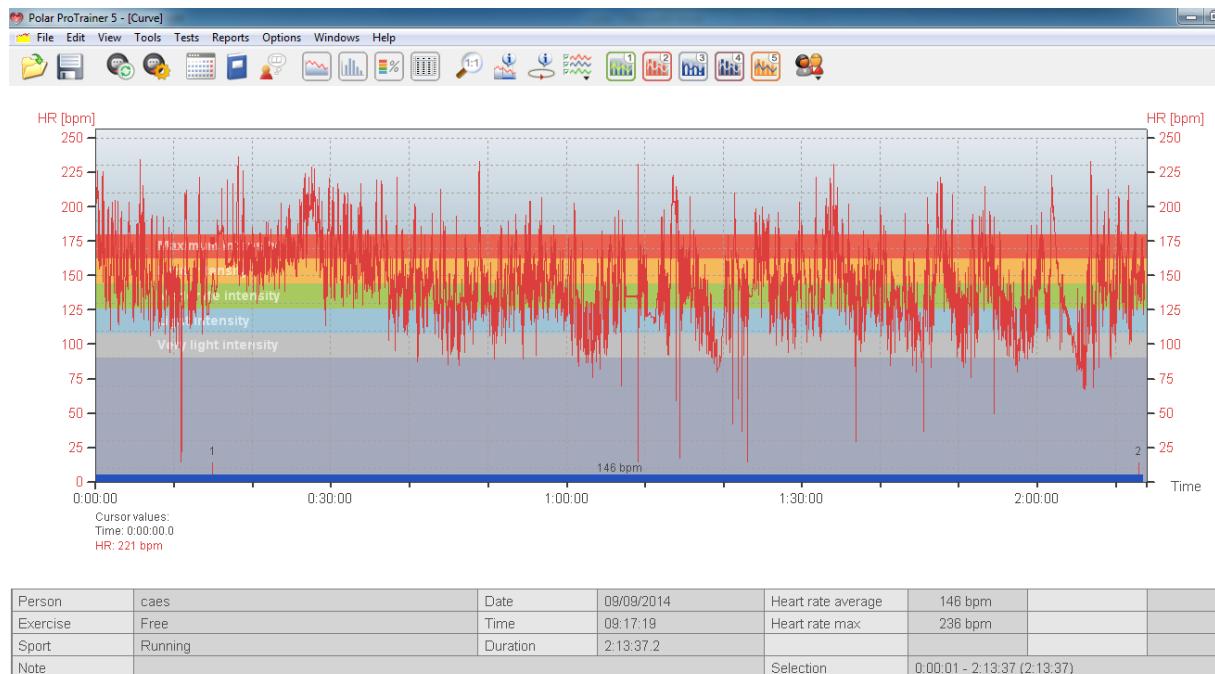


Figura 9: Gráfico confeccionado pelo programa Polar Pro Trainer 5®. Fonte: acervo pessoal

Os dados armazenados pelo programa Polar Protrainer 5 foram enviados para o programa Microsoft Office Excel 2007 sendo gerada uma lista de valores de intervalos RR em milisegundos (ms). A partir da lista de valores de intervalos RR, foram selecionados os segmentos a serem analisados:

- **Basal 1 (casa):** segmento de 5 minutos, após 5 minutos de adaptação na casa do proprietário.
- **Basal 2 (laboratório):** segmento de 5 minutos, após 15 minutos de adaptação ao laboratório.
- **Som:** segmento de 2,5 minutos, durante o estímulo sonoro.
- **Pós-som:** segmento de 5 minutos, após 55 minutos do estímulo sonoro .

Nos arquivos de Excel foram realizadas as correções de alguns artefatos de leitura através da substituição dos valores de intervalos RR discrepantes pela média dos valores dos dois IRR anteriores e dos dois posteriores (VON BORREL et al., 2007). Os segmentos foram enviados para o programa CardioSeries 2.4.1® (Figura 10) que permite a análise da VIC no domínio da frequência e no domínio do tempo.

Foi utilizada a Transformada Rápida de Fourier (FFT) para realizar a análise da VIC no domínio da frequência a partir da qual se obteve os valores de LF, HF e a razão entre os componentes LF e HF. Essa razão permite identificar o balanço entre a ativação simpática e parassimpática nos momentos selecionados. Os valores das variáveis utilizadas pelo programa foram padronizados da seguinte forma (PAGANI et al., 1986; LOMBARDI et al., 1996; MALLIANI et al., 1997; VON BORELL et al., 2007; HARADA et al., 2005):

- VLF – 0 a 0,04;
- LF 0,04 – 0,15;
- HF – 0,15 – 0,4;
- taxa de interpolação = 4
- pontos no domínio da frequência = 512.

Além disso, foi utilizado o parâmetro a FC média e a RMSSD (raiz quadrada da média das diferenças dos intervalos entre batimentos consecutivos elevadas ao quadrado) para realizar a análise da VIC no domínio do tempo.

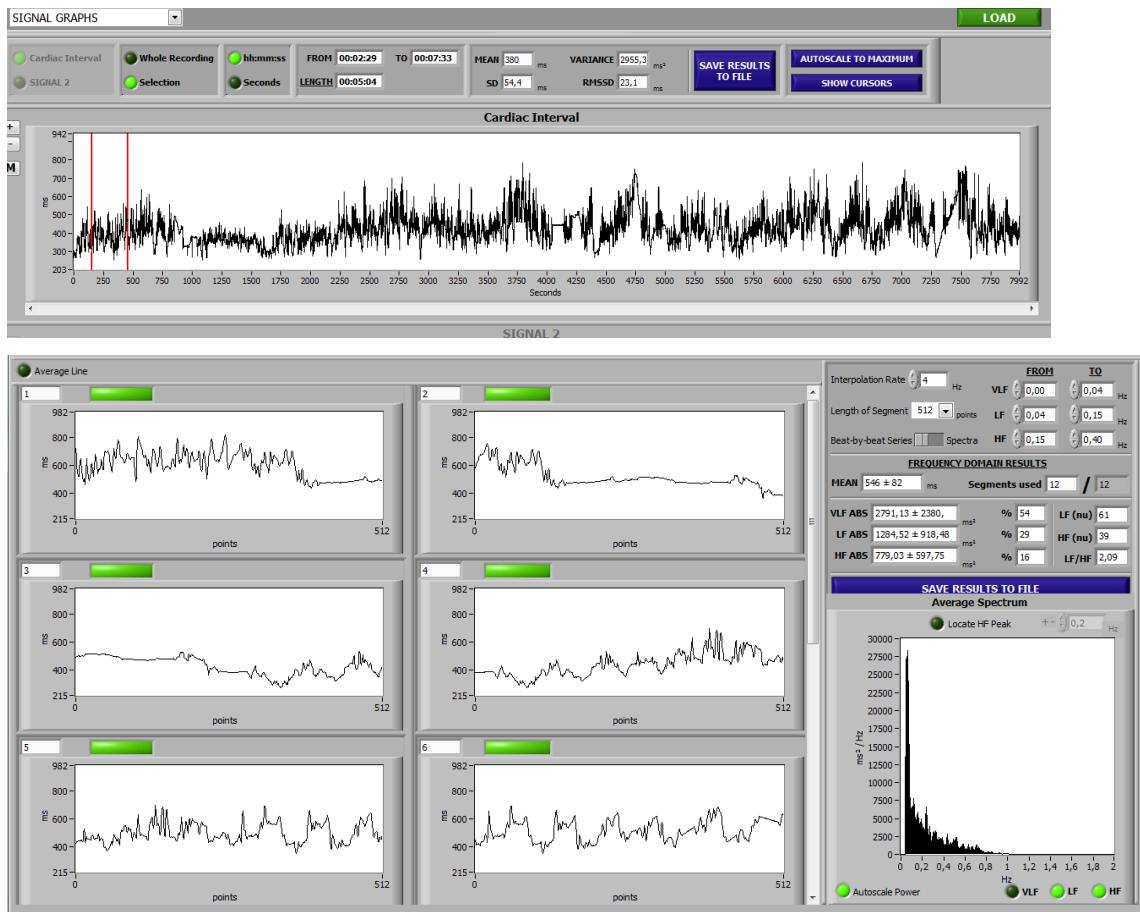


Figura 10: Tela do programa CardioSeries, demonstrando a razão entre os componentes de frequência LF e HF, a partir da FFT. Fonte: acervo pessoal

3.8 Análise Comportamental

As alterações comportamentais foram registradas através de filmagem (camera Sanyo digital movie C40) nos momentos basal, som e pós-som e, analisadas por um pesquisador que desconhecia a que grupo experimental os animais pertenciam.

Foram analisados 14 parâmetros: Arfar, tremer, postura de submissão, se esconder, procurar pessoas, vigilância, inquietação, vocalização, atitude destrutiva, salivação, eliminação, disparada, fuga da sala e sobressalto. A descrição dos parâmetros comportamentais analisados está detalhada na tabela 1.

Os parâmetros foram classificados, quanto a frequência de eventos observados em uma escala de 4 notas aonde: 0 = não observado, 1 = observado algumas vezes, 2 = observado frequentemente e 3 = observado durante todo o tempo de estímulo, conforme descrito por Mills et al., 2003.

Tabela 1: Descrição dos 14 parâmetros comportamentais analisados

Parâmetros	Descrição
Arfar	Aumento da frequência de inspiração e expiração em combinação com a abertura da boca.
Tremor	Evidência clara de tremor no corpo.
Postura de submissão	Abaixar-se e permanecer abaixado durante o estímulo.
Se esconder	Procurar locais para se abrigar, como atrás e debaixo de móveis, e permanecer no local.
Procurar pessoas	Deslocar-se deliberadamente para perto de uma pessoa, parando ao seu lado ou tentando interagir.
Vigilância	Estado de alerta constante em relação ao que está acontecendo no ambiente.
Inquietação	Estado de locomoção sem chegar a correr.
Vocalização	Emitir qualquer som vocal como: latir, ganir, chorar, rosnar.
Atitude destrutiva	Tentar cavar no ambiente ou arranhar e/ou morder objetos do ambiente.
Salivação	Aumento evidente da salivação ou aumento da frequência de deglutição da saliva.
Eliminação	Evacuar, urinar ou êmese.
Disparada	Resposta exagerada de fuga correndo, para qualquer direção.
Fugir da sala	Intencionalmente tentar sair do local, procurando possíveis acessos de saída.
Sobressalto	Resposta exagerada de susto, levando o animal a pular para qualquer direção.

(Adaptado de Sheppard & Mills, 2003; Beerda et al., 1998).

3.9 Análise Estatística

Os dados do perfil socioeconômico e das características gerais e de manejo dos animais foram analisados comparando animais não/fóbicos com fóbicos, através do teste t, no caso de dados numéricos (idade, peso, etc) e através do teste de Fisher (quando possível), no caso de dados qualitativos.

A análise estatística dos dados de VIC (razão LF/HF, FC média, LF, HF e RMSSD) foi realizada através da ANOVA de duas vias para medidas repetidas, considerando os fatores **Grupo** (Não-Fóbico/trovão, Fóbico/trovão, Não-Fóbico/Fogos e Fóbico/Fogos), **Tempo** (Basal 1, Basal 2, Som e Pós-som) e **Interação**, seguida de Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni. Para analisar o efeito do fator fobia e do tipo de estímulo, também foi realizada a ANOVA de duas vias utilizando apenas o momento som, considerando os fatores **Fobia** (Não-Fóbico x Fóbico), **Estímulo** (Trovão x fogos) e **Interação**.

Para análise dos dados comportamentais do momento do experimento, os escores atribuídos no momento do som foram avaliados através do Teste de Kruskal-Walis, considerando os grupos Não-Fóbico/trovão, Fóbico/trovão, Não-Fóbico/Fogos e Fóbico/Fogos.

Para todas as análises e confecção dos gráficos foi utilizado o programa GraphPad Prism 6.

4 RESULTADOS

4.1 Perfil dos proprietários e características gerais dos animais

Através do contato dos proprietários, foram cadastrados cerca de 35 cães, dos quais foram selecionados 28 para compor os grupos experimentais. Conforme descrito na tabela 2, foi observado que 82% dos 28 proprietários colaboradores são do sexo feminino e 17,86% do sexo masculino, sendo 46,43% casados, e 50% solteiros. As profissões mais frequentes entre esses proprietários foram: Estudante Universitário (50%), Professor Universitário (14,29%) e Médico Veterinário (14,29%).

Tabela 2: Perfil geral dos proprietários.

PERFIL DOS PROPRIETÁRIOS				
ESTADO CIVIL/ Profissão	Feminino	Masculino	Total Geral	%
Casado	12	1	13	46,4
Agrônomo	1	1	2	7,1
Estudante Universitário	3		3	10,7
Med. Veterinário	4		4	14,2
Professor Universitário	4		4	14,2
Solteiro	10	4	14	50
Estudante Universitário	7	3	10	35,7
Med. Veterinário	1		1	3,5
Servidor público	2		2	7,1
Zootecnista		1	1	3,5
Viúvo	1		1	3,5
Dona de casa	1		1	3,5
Total Geral	23	5	28	100
%	82,14%	17,86%	100,00%	

Apresentando gênero, estado civil e profissão dos 28 participantes, através de contagem e porcentagem.

Na comparação entre animais fóbicos e não-fóbicos podemos observar que não houve diferenças significativas nos parâmetros gênero dos proprietários ($p=6900$), estado civil ($p=0,5643$) ou profissão ($p=0,5596$). Dessa forma os dados indicam que na

população analisada nos bairros próximos a UFRRJ, não há um perfil específico de proprietários de animais fóbicos (Tabela 3).

Tabela 3: Perfil dos proprietários dos cães segundo os grupos não-fóbicos e fóbicos.

PERFIL DOS PROPRIETÁRIOS									
NÃO-FÓBICOS				FÓBICOS					
	F	M	total	%		F	M	total	%
Casado	5	5	41,6		Casado	6	1	7	43,7
Agrônomo	1	1	8,3		Agrônomo		1	1	6,2
Estudante Uni.	1	1	8,3		Estudante Uni.	2		2	12,5
Med. Veterinário	2	2	16,6		Med. Veterinário	2		2	12,5
Professor Uni.	1	1	8,3		Professor Uni.	2		2	12,5
Solteiro	4	3	7	58,3	Solteiro	6	2	8	50
Estudante Uni.	4	3	7	58,3	Estudante Uni.	3	1	4	25
Total %	75	25	12	100	Med. Veterinário	1		1	6,2
					Servidor UFRRJ	2		2	12,5
					Zootecnista		1	1	6,2
					Viúva	1		1	6,2
					Dona de casa	1		1	6,2
					Total %	81,2	18,7	16	100

Apresentando gênero, estado civil e profissão dos 28 participantes, através de contagem e porcentagem.

Em relação a características gerais dos animais, na comparação entre animais não-fóbicos e fóbicos (Tabela 4), o test t não detectou diferença no peso (não-fóbicos= $19,48 \pm 2,039$ kg e fóbicos= $18,94 \pm 1,68$ kg; $F_{(11, 15)} = 1,102$, $p=0,8075$) e na idade (não-fóbicos= $2,83 \pm 0,2706$ anos e fóbicos= $3,48 \pm 0,3287$ anos; $F_{(11, 15)} = 1,1968$, $p=0,1880$). O teste de Fisher também não detectou diferença entre animais não-fóbicos e fóbicos, na característica castração ($p=0,441$) e no gênero dos animais ($p=0,4184$). A raça mais frequente em ambos os grupos foi a SRD (sem raça definida) (75% dos não-fóbicos e 68,7% dos fóbicos), e a maioria dos animais foi originada da doação de terceiros (41% dos não-fóbicos e 25% dos fóbicos), ou adotados da rua (50 % de animais dos não-fóbicos e dos fóbicos). Foram originados de compra (canil) apenas 8,3% dos animais não-fóbicos e 12,5% dos animais fóbicos.

Dessa forma, nossos dados indicam que entre animais não-fóbicos e fóbicos, não há diferença significativa nos fatores idade, peso, raça e origem dos animais, na população avaliada (Tabela 4).

Tabela 4:Características gerais dos animais não-fóbicos e fóbicos.

CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS CÃES					
NÃO-FÓBICOS			FÓBICOS		
SEXO/ CASTRADOS					
F	8	66,6%	F	13	81,2%
NÃO	3	25%	NÃO	5	31,2%
SIM	5	41,6%	SIM	8	50%
M	4	33,3%	M	3	18,7%
NÃO	3	25%	SIM	3	18,7%
SIM	1	8,3%	Total	16	100%
Total	12	100%			
PESO					
Média	Máx	Mín	Média	Máx	Mín
19,5	30	12	18,9	30	10
IDADE					
Média	Máx	Mín	Média	Máx	Mín
2,8	5	2	3,4	6	2
RAÇA					
DALMATA	1	8,3%	BODER COLLIE	1	6,2%
LABRADOR	1	8,3%	LABRADOR	2	12,5%
PIT BULL	1	8,3%	LHASA APSO	1	6,2%
SRD	9	75%	PASTOR AUSTRALIANO	1	6,2%
Total	12	100%	SRD	11	68,7%
			Total	16	100%
ORIGEM					
CANIL	1	8,3%	CANIL	2	12,5%
DOAÇÃO	5	41,7%	CASA	2	12,5%
RUA	6	50,0%	DOAÇÃO	4	25,0%
Total	12	100%	RUA	8	50,0%
			Total	16	100%

Com relação ao manejo dos animais, os proprietários foram questionados se houve, no último ano, alguma alteração na rotina familiar. Foi observado, que 75% dos não-fóbicos e 68,7% dos fóbicos apresentaram alguma mudança na rotina, sendo a mudança de casa, a alteração de maior ocorrência entre os fóbicos com 56% e 25% nos não-fóbicos (Tabela 5). No entanto, não houve diferença entre os grupos ($p=0.4351$). Vale lembrar, que segundo os proprietários, a mudança não parece ter determinado ou interferido no aparecimento de fobia, uma vez que os animais já eram fóbicos.

Através do questionário (Anexo 1) e da visita, foi observado que os animais, em sua grande maioria moram em casa com quintal, sendo 91,6% dos não-fóbicos e 87,5%

dos fóbicos, contra apenas 8,3% dos não-fóbicos e 12,5% dos fóbicos. que moram em apartamento.

Foi também observado o local onde dormem, concluindo-se que a grande maioria (50% dos não-fóbicos e 37,5% dos fóbicos) dorme no quintal, em área com piso. Apenas 31,2% dos fóbicos e os 16,6% dos não-fóbicos dormem dentro de casa. Não foi detectada diferenças entre os grupos ($p=0,4351$).

Quanto à alimentação dos cães, foi relatado por 100% dos proprietários, na entrevista, ser composta, exclusivamente, de ração comercial.

Dessa forma, nossos dados sugerem não haver na população, aqui analisada, uma diferença no manejo de animais fóbicos, que possa estar interferindo no fator fobia.

Tabela 5: Características de manejo dos animais não-fóbicos e fóbicos.

MANEJO				
	NÃO-FÓBICOS		FÓBICOS	
MUDANÇA NA ROTINA	9	75%	11	68,7%
MORTE	2	16,6%	3	18,7%
DIVORCIO	0	0%	0	0%
CASAMENTO	0	0%	1	6,2%
NASCIMENTO	1	8,3%	1	6,2%
MUDANÇA DE CASA	3	25%	9	56,2%
OUTROS	5	41,6%	3	18,7%
TIPO DE MORADIA				
	% N		%	
APARTAMENTO	1	8,3	2	12,5
CASA QUINTAL	11	91,6	14	87,5
ONDE DORME				
	%		%	
CIMENTO CANIL	1	8,3	1	6,2
CIMENTO QUINTAL	3	25	4	25
DENTRO DE CASA	2	16,6	5	31,2
PISO QUINTAL	6	50	6	37,5

Para pesquisar se os animais apresentavam algum comportamento que pudesse estar relacionado à ansiedade, os proprietários foram questionados sobre a ocorrência frequente e/ou descontrolada de comportamentos considerados inadequados, apesar de serem inerentes à espécie (Anexo 1). Neste caso, estas características comportamentais não tinham, necessariamente, relação com o momento do som de trovão e fogos de

artifício e poderiam ser observadas a qualquer momento. No grupo de animais não-fóbicos, 100% apresentaram queixas e no grupo de fóbicos, 93,7%. As características de maior frequência foram: fugir com 58,3% dos não-fóbicos e 56,2% dos fóbicos; cavar com 33,3% dos não-fóbicos e 56,2% dos fóbicos; pular com 50% dos não-fóbicos e 43,7% dos fóbicos. Destacando-se, nos fóbicos, ainda, timidez e agitação com 43,7% contra 8,3% e 41,6% dos não-fóbicos, respectivamente (tabela 6). O teste do Qui-quadrado não mostrou diferença na ocorrência destes comportamentos entre os grupos ($p=0,7333$).

Quando questionados sobre o início das reações comportamentais exageradas ao sons de trovão e fogos de artifício, todos os proprietários dos 16 animais fóbicos responderam que seus cães sempre apresentaram o comportamento de fobia a sons de trovão/ fogos de artifício, ou que não sabem dizer quando começou, pois passaram a conviver com cão já depois de adulto.

Dessa forma, os dados demonstram que os proprietários da população analisada, de maneira geral, apresentam queixas comportamentais de seus cães, não sendo uma exclusividade dos animais fóbicos. Ou seja, de uma forma geral, a população de proprietários e de cães se mostra homogênea, não havendo diferenças significativas, fora o fator fobia, entre os proprietários e nem entre os cães não-fóbicos e fóbicos.

Nenhum dos animais participantes passaram por treinamento, adestramento, ou tratamento comportamental, até o dia do experimento.

O questionário referente à fobia a sons de trovão e fogos de artifício, foi composto de dez parâmetros (arfar, tremer, se esconder, procurar por pessoas, salivação, destruição, auto flagelo, inquietação, eliminação, vocalização) comumente observados no momento do som em cães fóbicos através de 6 notas (0-5). Os dados produzidos pelo questionário foram analisados através do teste de Mann Whitney comparando as reações dos animais Não-fóbicos e Fóbicos, conforme descrito pelos próprios proprietários. Foi detectada diferença significativa nos parâmetros: **Arfar** ($p < 0,0001$); **Tremor** ($p= 0,0001$); **Se Esconder** ($p < 0,0001$); **Procurar por pessoas** ($p= 0,0005$); **Inquietação** ($p=0,003$); **Vocalização** ($p= 0,0019$), e **Salivação** ($p= 0,0011$). Já os parâmetros **Destrução**, **Eliminação** e **Auto flagelo** não apresentaram diferença significativas entre os grupos Não-fóbicos (trovão e fogos) e Fóbicos (trovão e fogos) (Figura 11).

Tabela 6: Características comportamentais dos animais não-fóbicos e fóbicos

QUEIXAS COMPORTAMENTAIS (EXCETO FOBIA)	COMPORTAMENTO		FÓBICOS
	NÃO-FÓBICOS		
Nº de CÃES	12	100%	15 93,7%
FUGIR	7	58,3%	9 56,2%
TIMIDEZ	1	8,3%	7 43,7%
ROER	1	8,3%	6 37,5%
AGITAÇÃO	5	41,6%	7 43,7%
MORDER	2	16,6%	2 12,5%
DESOBEDIENCIA	3	25%	2 12,5%
CAVAR	4	33,3%	9 56,2%
LATIR	3	25%	4 25%
BRIGAR	2	16,6%	0 0%
AGRESSÃO	1	8,3%	1 6,2%
UIVAR	2	16,6%	1 6,2%
COPROFAGIA	0	0%	0 0%
PULAR	6	50%	7 43,7%

Dados apresentados em contagem e porcentagem

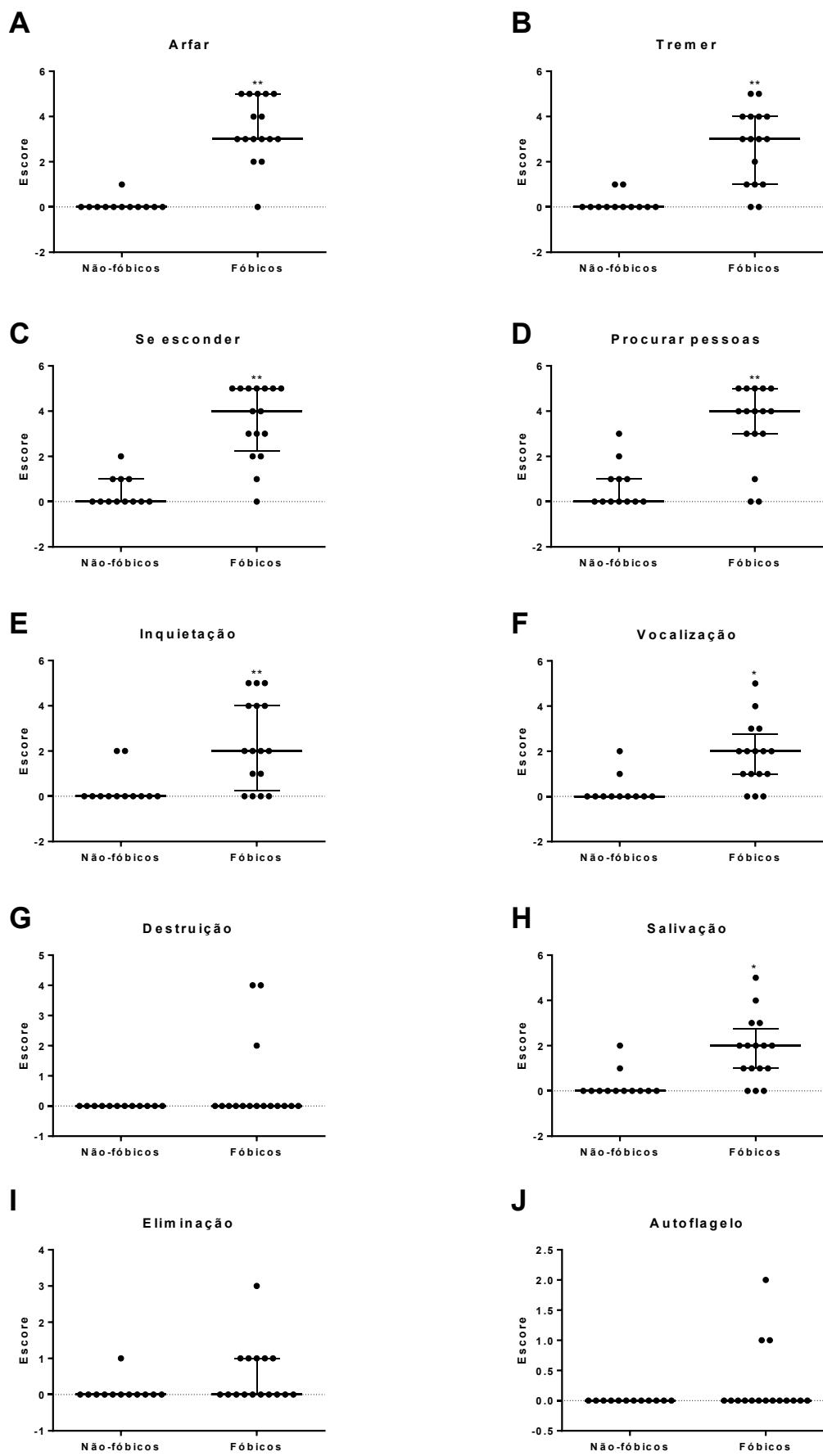


Figura 11: (página anterior): Parâmetros avaliados segundo proprietário. Os dados apresentados correspondem aos parâmetros comportamentais avaliados através de questionário (anexo 3), contendo dez parâmetros comumente alterados em cães fóbicos no momento do som de trovão e fogos de artifício respondido pelos proprietários em uma escala de 5 notas. O teste de Mann Whitney detectou diferença significativa entre os grupos Não-fóbicos (trovão e fogos) e Fóbicos (trovão e fogos) nos parâmetros: A. **Arfar** ($p<0,0001$); B. **Tremor** ($p=0,0001$); C. **Se Esconder** ($p<0,0001$); D. **Procurar por pessoas** ($p=0,0005$); E. **Inquietação** ($p=0,003$); F. **Vocalização** ($p=0,0019$), e H. **Salivação** ($p=0,0011$), sem diferença nos parâmetros G. **Destruição**, I. **Eliminação** e J. **Auto flagelo**.

4.2 Análise da Variabilidade do Intervalo Cardíaco

A ANOVA de duas vias para medidas repetidas, detectou diferença significativa na razão LF/HF nos fatores: **Interação** ($F_{(9, 72)} = 9,22$; $p < 0,0001$) e no fator **Tempo** ($F_{(3, 72)} = 58,35$; $p < 0,0001$), sem diferença no fator **Grupo**. O Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni detectou diferença significativa entre os grupos Não-fóbicos (Não-fóbicos/trovão e Não-fóbicos/fogos) e os grupos Fóbicos (Fóbicos/trovão e Fóbicos/fogos) apenas no momento som. Não foi detectada diferença significativa em nenhum momento entre os grupos Fóbicos/Trovão e Fóbico/Fogos ou entre os grupos Não-fóbico/Trovão e Não-fóbico/Fogos. Os grupos não diferiram entre si nos momentos basal 1, basal 2 e pós-som (Figura 12).

Para confirmar o efeito do fator fobia (Não-fóbicos x Fóbicos) e do tipo de estímulo (trovão x fogos), os dados também foram analisados através da ANOVA de duas vias, considerando apenas o momento som. Na razão LF/HF, a ANOVA detectou diferença significativa no fator: **Fobia** ($F_{(1, 24)} = 44,12$; $p < 0,0001$), não apresentando diferença significativa no fator **Estímulo** ($F_{(1, 24)} = 1,22$; $p < 0,279$) ou **Interação** ($F_{(1, 24)} = 0,5538$; $p < 0,464$).

Estes resultados sugerem que tanto o estímulo de som de trovão, quanto o som de fogos aumentaram a razão LF/HF nos animais não-fóbicos e nos animais fóbicos (já que houve efeito do fator tempo). No entanto, a magnitude do aumento na razão LF/HF produzida pelo som é significativamente maior em animais fóbicos do que em animais não-fóbicos.

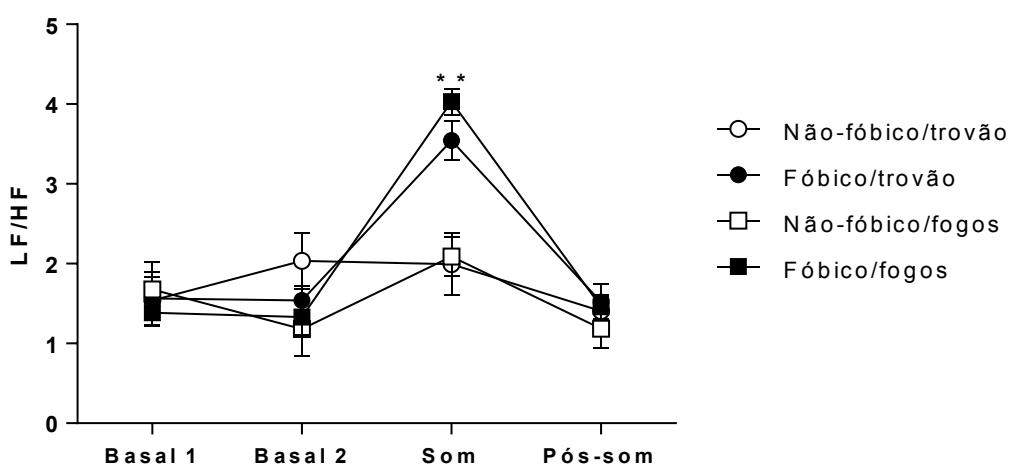


Figura 12: Razão LF/HF de cães Fóbicos e Não fóbicos a sons de Trovão e/ou Fogos de Artifício submetidos ao estresse sonoro agudo. Os dados são apresentados como média ± epm da Razão LF/HF nos momentos Basal 1, Basal 2, Som e Pós-som. ** indica diferença

significativa dos grupos Fóbicos/Trovão e Fóbicos/Fogos com relação aos grupos Não-fóbicos/Trovão e Não-fóbicos/Fogos.

Na análise estatística dos componentes de baixa frequência (LF), a ANOVA de duas vias para medidas repetidas detectou diferença significativa no fator **Tempo** ($F_{(3, 72)} = 21,5$; $p < 0,0001$), sem diferença nos fatores **Interação** ($F_{(9, 72)} = 1,83$; $p = 0,0773$) e **Grupo** ($F_{(3, 72)} = 0,3314$; $p = 0,8027$). O Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni não detectou diferença significativa em nenhum momento entre os grupos (Figura 13). Na avaliação do efeito do fator fobia (Não-fóbicos x Fóbicos) e do tipo de estímulo (trovão x fogos), no componente LF, a ANOVA detectou diferença significativa no fator: **Fobia** ($F_{(1, 24)} = 6,00$; $p = 0,02$), não apresentando diferença significativa no fator **Estímulo** ($F_{(1, 24)} = 0,000028$; $p = 0,9958$) ou **Interação** ($F_{(1, 24)} = 0,0083$; $p = 0,9282$). Não apresentando diferença significativa entre os grupos no Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni.

Os quatro grupos demonstraram um aumento significativo do componente LF no momento som (tanto som de trovões quanto o som de fogos) em relação aos momentos basal 1 e basal 2 e pós-som. Os resultados sugerem ainda que o componente LF aumentou, tanto em animais não-fóbicos, como em animais fóbicos (já que houve efeito do fator tempo). No entanto, a magnitude do aumento de LF produzido pelo som é significativamente maior em animais fóbicos do que em animais não-fóbicos (Figura 13).

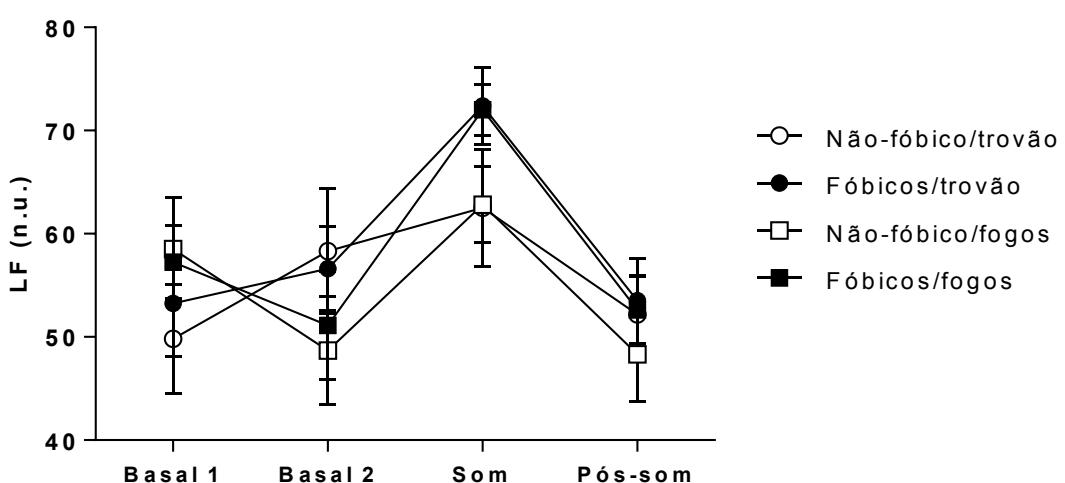


Figura 13: LF (componente de baixa frequência) de cães Fóbicos e Não fóbicos submetidos ao estresse sonoro agudo através de sons de Trovão e Fogos de Artifício. Os dados são apresentados como média \pm epm do valor LF (em unidades normalizadas) nos momentos Basal

1, Basal 2, Som e Pós-som. A Anova de duas vias para medidas repetidas detectou significativa no fator **Tempo** ($F_{(3, 72)} = 21,5$; $p < 0,0001$), sem diferença nos fatores **Interação** e **Grupo**.

Na análise estatística dos componentes de alta frequência (HF), a ANOVA de duas vias para medidas repetidas detectou diferença significativa no fator **Tempo** ($F_{(3, 72)} = 17,18$; $p < 0,0001$), sem diferença nos fatores **Interação** ($F_{(9, 72)} = 1,431$; $p = 0,191$) e **Grupo** ($F_{(3, 72)} = 0,237$; $p = 0,869$). O Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni não detectou diferença significativa em nenhum momento entre os grupos. Os grupos não diferiram entre si nos momentos basal 1, basal 2 e pós-som (Figura 14). Na avaliação do efeito do fator fobia (Não-fóbicos x Fóbicos) e do tipo de estímulo (trovão x fogos), no componente HF, a ANOVA detectou diferença significativa no fator: **Fobia** ($F_{(1, 24)} = 6,00$; $p = 0,02$), não apresentando diferença significativa no fator **Estímulo** ($F_{(1, 24)} = 2,87$; $p = 0,995$) ou **Interação** ($F_{(1, 24)} = 0,008$; $p = 0,928$). E não apresentando diferença significativa entre os grupos no Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni.

Estes resultados demonstraram uma diminuição do componente HF (retirada parassimpática) no momento som (tanto som de trovões quanto o som de fogos) em relação aos momentos basal 1, basal 2 e pós-som. Os resultados sugerem ainda que houve diminuição do fator HF tanto em animais não-fóbicos como em animais fóbicos (já que houve efeito do fator tempo). No entanto, a magnitude da diminuição de HF produzido pelo som foi significativamente maior em animais fóbicos do que em animais não-fóbicos (Figura 14).

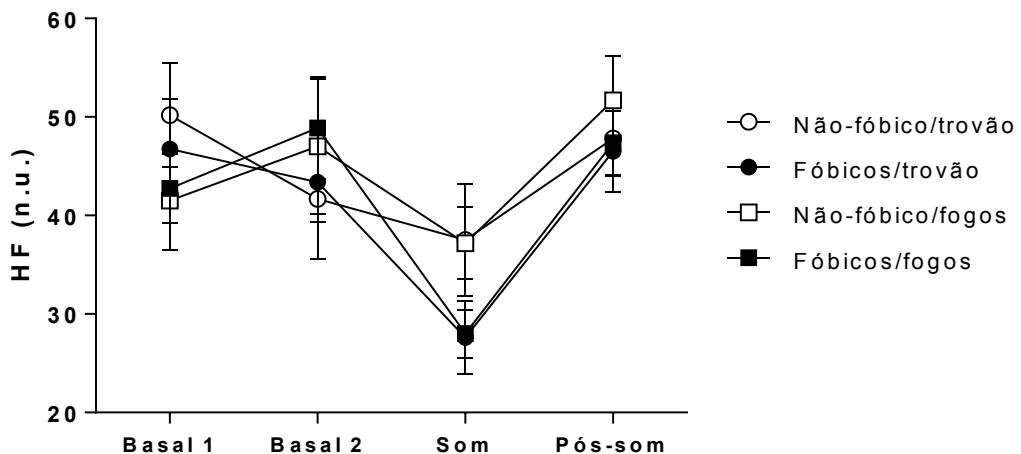


Figura 14: HF (componente de alta frequência) de cães Fóbicos e Não-fóbicos a sons de Trovão e/ou Fogos de Artifício submetidos ao estresse sonoro agudo. Os dados são apresentados como média \pm epm do valor de HF nos momentos Basal 1, Basal 2, Som e Pós-som. A Anova de duas vias para medidas repetidas detectou diferença significativa no fator **Tempo** ($F_{(3, 72)} = 21,5$; $p < 0,0001$), sem diferença nos fatores **Interação** e **Grupo**.

Os parâmetros de VIC, no domínio do tempo, analisados neste estudo, foram: FC média (Frequência Cardíaca Média) e RMSSD (raiz quadrada da média das diferenças de intervalos entre batimentos consecutivos, elevadas ao quadrado).

A ANOVA de duas vias para medidas repetidas com relação a FC média detectou diferença significativa no fator **Tempo** ($F_{(3, 72)} = 2,84$; $p = 0,043$), sem diferença nos fatores **Interação** $F_{(9, 72)} = 0,940$; $p = 0,495$ e **Grupo** $F_{(3, 72)} = 2,25$; $p = 0,107$). O Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni não detectou diferença significativa entre os grupos (Figura 15). Com relação ao fator fobia (Não-fóbicos x Fóbicos) e tipo de estímulo (trovão x fogos) na FC média, a ANOVA detectou diferença significativa no fator **Fobia** $F_{(1, 24)} = 784$; $p = 0,009$), e não detectou diferença significativa nos fatores **Estímulo** e **Interação**. Não apresentando diferença significativa no Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni. Dessa forma, os dados mostram que a FC média foi significativamente maior no momento som, principalmente entre os grupos Fóbicos e Não-fóbicos. Não havendo diferença significativa entre o estímulo sonoro de trovão e fogos de artifício

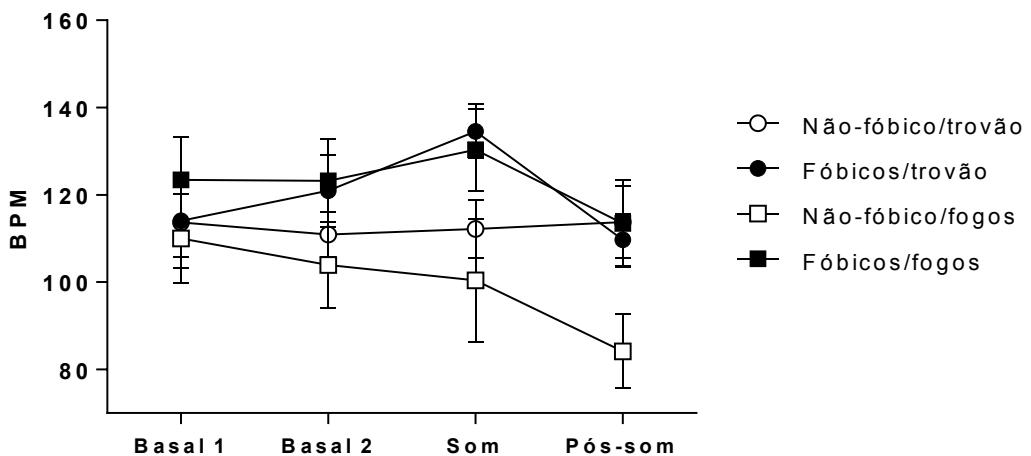


Figura 15: FC (Frequência Cardíaca Média) dos cães submetidos ao estresse sonoro agudo. Os dados são apresentados como FC média (Frequência Cardíaca Média) em BPM (batimentos por minuto) \pm epm nos momentos basal 1, basal 2, som e pós-som. Demonstrando diferença significativa no momento som principalmente entre os grupos Fóbicos e Não-fóbicos, não havendo diferença significativa entre o estímulo sonoro de trovão e fogos de artifício.

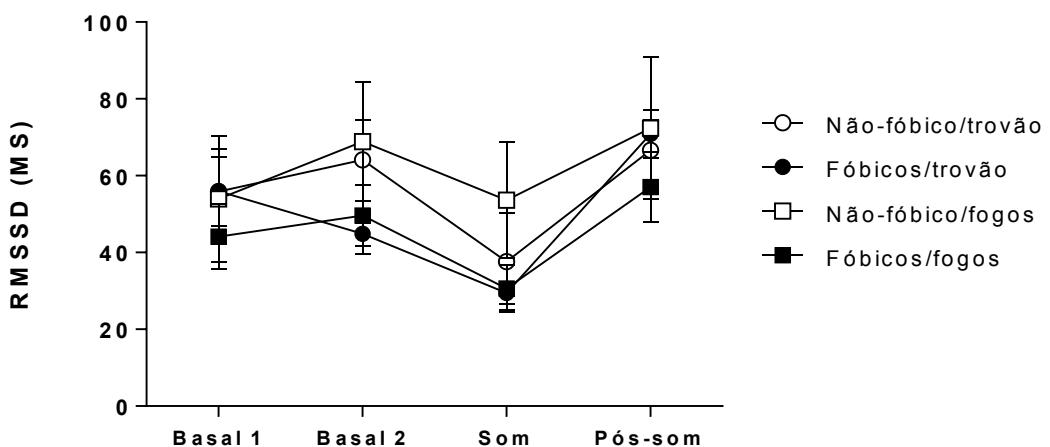


Figura 16: RMSSD (raiz quadrada da média das diferenças entre intervalos entre batimentos consecutivos elevadas ao quadrado) de cães submetidos ao estresse sonoro agudo. Os dados apresentados correspondem à RMSSD em ms \pm epm nos momentos basal 1, basal 2, som e pós-som. Demonstrando diferença significativa no momento som, porém não havendo diferença significativa entre os grupos Fóbicos e Não-fóbicos, e entre o estímulo sonoro de trovão e fogos de artifício.

A ANOVA de duas vias para medidas repetidas com relação a RMSSD detectou diferença significativa no fator **Tempo** ($F_{(3, 72)} = 10,50$; $p < 0,0001$), sem diferença nos fatores **Interação** $F_{(9, 72)} = 0,762$; $p = 0,650$) e **Grupo** $F_{(3, 72)} = 0,827$; $p = 0,491$). O Teste de Comparações Múltiplas de Bonferroni não detectou diferença significativa em nenhum momento entre os grupos. No efeito do fator fobia (Não-fóbicos x Fóbicos) e

do tipo de estímulo (trovão x fogos) na RMSSD, a ANOVA não detectou diferença significativa no fator **Fobia, Estímulo e Interação**.

Os dados mostram que a RMSSD foi significativamente diferente no momento som, porém não havendo diferença significativa entre os grupos Fóbicos e Não-fóbicos, e entre o estímulo sonoro de trovão e fogos de artifício (Figura 16).

4.3 Análise das reações comportamentais induzidas pelo som

A análise das alterações comportamentais no experimento foi feita através de filmagens realizadas durante o protocolo experimental, onde foram avaliados 14 parâmetros (Tabela 1), atribuindo um escore para cada alteração utilizando uma escala de notas de 0 a 3 onde: 0 = não observado, 1 = observado algumas vezes, 2 = observado frequentemente e 3 = observado durante todo o tempo de estímulo. Os dados estão apresentados na tabela 7 através da média dos escores em cada parâmetro e do número de animais que apresentaram reação, nos tempos basal 2, som e pós-som, separado pelos grupos experimentais.

No momento basal, somente no grupo Não-fóbico/Trovão houve ocorrência de mais de um parâmetro, sendo eles procurar por pessoas, vigilância e inquietação, onde foi observado apenas um animal com escore 1 em cada parâmetro. No momento som, foi observado escores maiores num maior número animais principalmente nos parâmetros vigilância, tremer e se esconder. Desta forma, na análise estatística foi avaliado somente o momento som.

Tabela 7: Parâmetros comportamentais avaliados no experimento.

Parâmetros	MÉDIA (Nº de animais)											
	Basal 2: laboratório				Som				Pós-som			
	Trovão		Fogos		Trovão		Fogos		Trovão		Fogos	
	Non-fóbico (6)	Fóbico (8)	Non-fóbico (6)	Fóbico (8)	Non-fóbico (6)	Fóbico (8)	Non-fóbico (6)	Fóbico (8)	Non-fóbico (6)	Fóbico (8)	Non-fóbico (6)	Fóbico (8)
Arfar	0 (6)	0,12 (1)	0,16 (1)	0 (8)	0,16 (1)	1 (5)	0,66 (2)	1,25 (5)	0 (6)	0,37 (3)	0,3 (1)	0,5 (4)
Tremor	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0,3 (1)	0,75 (4)	0 (6)	2,25 (8)	0,16 (1)	0,5 (4)	0 (6)	0,37 (3)
Submissão	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0,3 (2)	0,25 (2)	0,16 (1)	1,125 (5)	0 (6)	0 (6)	0 (6)	0 (8)
Esconder	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0,16 (1)	0,75 (4)	0,5 (3)	2,125 (7)	0 (6)	0,12 (1)	0 (6)	0,12 (1)
Proc. pess,	0,16 (1)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0,5 (1)	0,37 (2)	0,5 (3)	0,87 (3)	0,16 (1)	0,12 (1)	0,16 (1)	0 (8)
Vigilância	0,16 (1)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0,5 (4)	1,5 (6)	1,16 (4)	3,62 (8)	0,3 (2)	0,37 (3)	0,66 (4)	0,75 (6)
Inquietação	0,16 (1)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0,5 (1)	0,75 (3)	0,16 (1)	1,37 (5)	0,16 (1)	0,3 (2)	0,16 (1)	0 (8)
Vocalização	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0,3 (1)	0,25 (2)	0 (6)	0,25 (2)	0,16 (1)	0 (8)	0 (6)	0 (8)
Atit. dest	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)
Salivação	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0,37 (2)	0 (6)	1 (6)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0,12 (1)
Eliminação	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)
Disparada	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0,12 (1)	0 (6)	0,25 (2)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)
Fugir da sala	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0,5 (3)	0,16 (1)	0,87 (4)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)
Sobressalto	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0,5 (3)	0 (6)	0,37 (3)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)

Comportamentos avaliados no nos momentos basal 2, som e pós som, descritos por escala de 4 notas onde: 0 = não observado, 1 = observado algumas vezes, 2 = observado frequentemente e 3 = observado durante todo o tempo de estímulo. Os dados estão apresentados pela média dos escores (média relativa ao numero total de animais do grupo, sendo não-fóbicos 6 animais e fóbicos 8 animais), e entre parênteses nos parâmetros o numero de animais que apresentaram reação.

O teste de Kruskal-Wallis demonstrou que no momento do som houve diferença significativa entre os grupos nos parâmetros **Tremor** ($p=0,0007$), **Se Esconder** ($p=0,0057$), **Vigilância** ($p=0,0029$) (Figura 17) e **Salivação** ($p=0,0068$) (Figura 18). O Teste de comparações múltiplas de Dunn's demostrou que o Fóbico/fogos foi significativamente diferente dos grupos Não-fóbico/trovão e Não-fóbico/fogos no parâmetros Tremor, Vigilância e Salivação. No parâmetro Se Esconder o grupo Fóbico/fogos foi diferente do grupo Não-fóbico/fogos. Não foi detectada diferença significativa entre o grupo Fóbico/trovão e os demais grupos.

Já nos seguintes parâmetros, o teste de Kruskal-Wallis e o teste de comparações múltiplas de Dunn's, demonstrou não haver diferença significativa: **Arfar** ($p=0,223$); **Submissão** ($p=0,1915$); **Procurar por pessoas** ($p=0,7421$); **Inquietação** ($p=0,2244$); **Vocalização** ($p=0,6450$) (Figura 17); **Disparada** ($p=0,3825$); **Fugir** ($p=0,1513$) e **Sobressalto** ($p=1390$) (Figura 18), entre os grupos no momento do som induzido. Quanto aos parâmetros **Destrução** e **Eliminação**, não foram observados durante o experimento por nenhum dos animais testados (Figura 18).

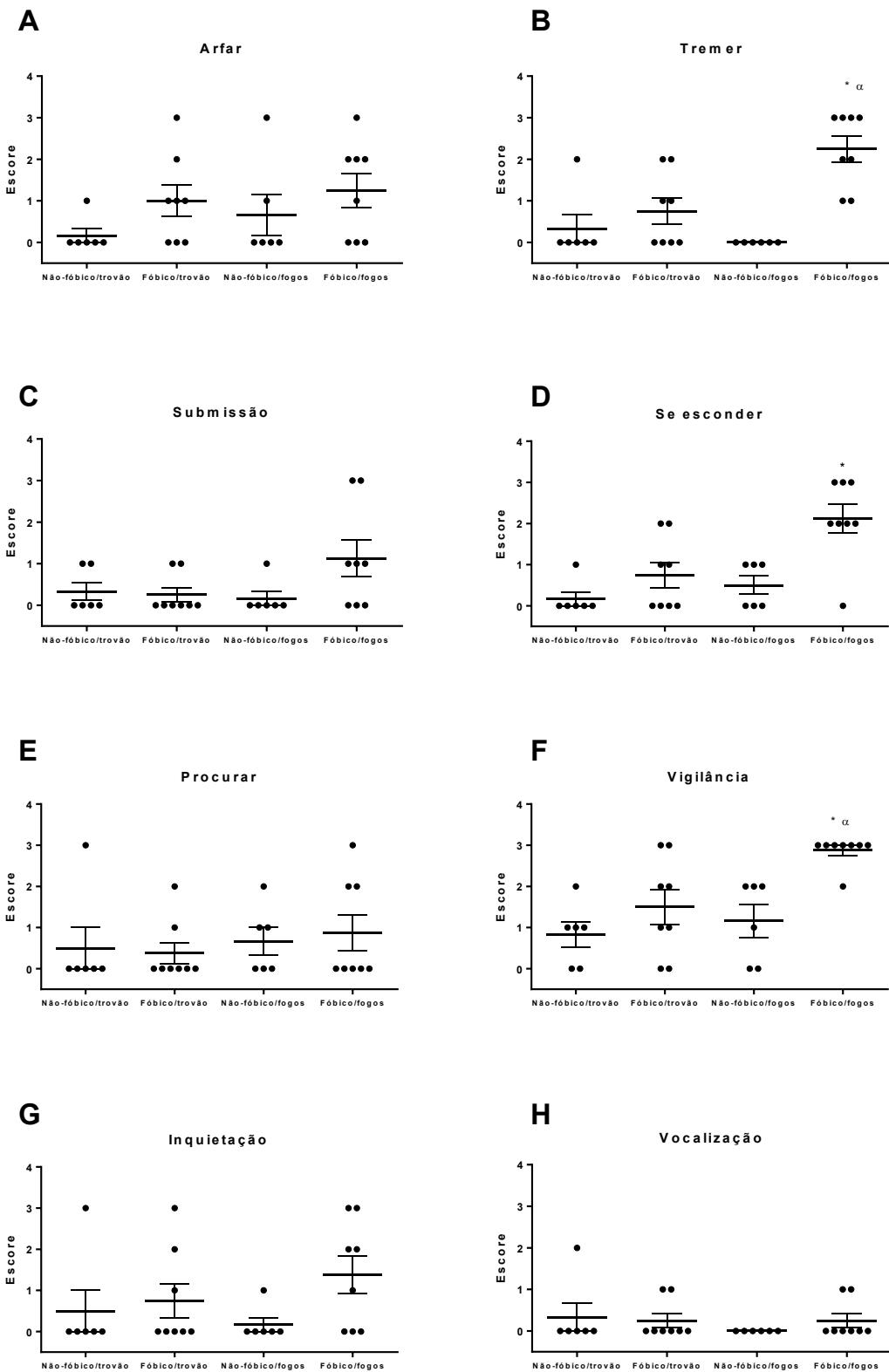


Figura 17: Oito dos parâmetros comportamentais induzidos pelo som em cães de companhia submetidos a um modelo de estresse sonoro agudo. Os dados apresentados correspondem aos parâmetros comportamentais avaliados somente no momento do som nos grupos Não-fóbicos (trovão e fogos), e Fóbicos (trovão e fogos). Teste de Kruskal-Wallis detectou diferença significativa nos parâmetros: (B) Tremor ($p=0,0007$); (D) Se Esconder

($p=0,0057$) e (F) Vigilância ($p=0,29$). * indica diferença significativa do Não-fóbico/Fogos; Indica diferença significativa do Não-fóbico/trovão.

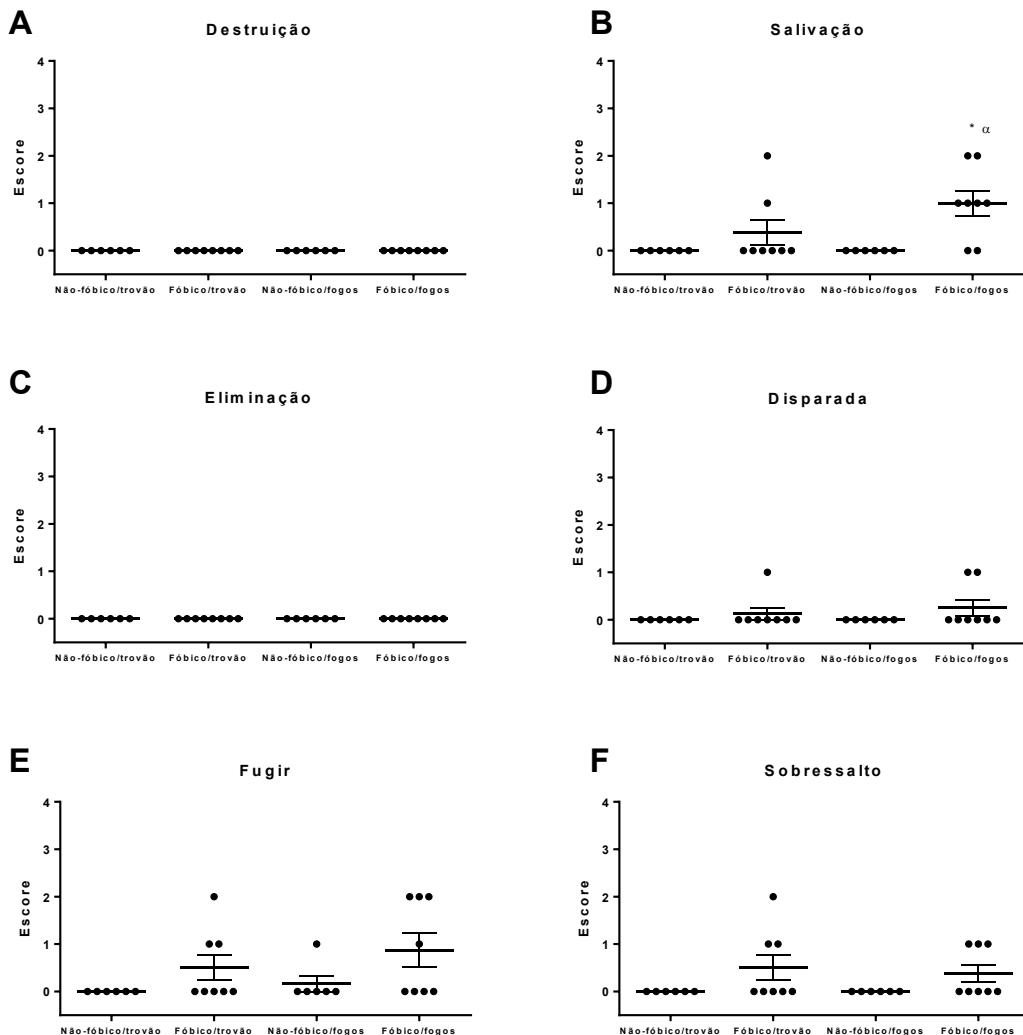


Figura 18: Seis dos parâmetros comportamentais induzidos pelo som em cães de companhia submetidos a um modelo de estresse sonoro agudo. Os dados apresentados correspondem aos parâmetros comportamentais avaliados somente no momento do som nos grupos Não-fóbicos (trovão e fogos), e Fóbicos (trovão e fogos). Teste de Kruskal-Wallis detectou diferença significativa no parâmetro (B) Salivação ($p=0,0068$). * indica diferença significativa do Não-fóbico/Fogos; Indica diferença significativa do Não-fóbico/trovão.

4.4 Correlações entre os dados

Utilizamos o teste de Spearman para estudar se houve correlação entre comportamento dos cães descrito pelos proprietários numa situação natural de trovão ou fogos e o exibido em laboratório durante o modelo de estresse sonoro. Neste caso, correlacionamos os mesmos parâmetros exemplo “arfar” em casa com “arfar” no laboratório. O parâmetro destruição no laboratório foi correlacionado com destruição em casa e com autoflagelo em casa. Nesta análise apenas os parâmetros comportamentais que apresentaram correlação significativa foram: **Tremer** ($p<0,0001$) e **Esconder** ($p=0,0041$). Enquanto os parâmetros **Arfar; Procurar por pessoas; Inquietação, Vocalização e Salivação não tiveram correlação significativa**. Os parâmetros **Destrução, Eliminação** e a correlação entre **destruição x autoflagelo** não foram testadas porque os animais não exibiram estes comportamentos em casa e principalmente no laboratório (Figura 19).

Os dados referentes ao comportamento em casa e o exibido em laboratório está apresentado na tabela 8.

Tabela 8: Correlação entre parâmetros comportamentais avaliados pelos proprietários e os avaliados durante o experimento.

Parâmetros	Avaliação por escore segundo proprietário (0-5)				Avaliação por escore no momento som experimento (0-3)			
	Trovão		Fogos		Trovão		Fogos	
	Ñ fóbico (6)	Fóbico (8)	Ñ fóbico (6)	Fóbico (8)	Ñ fóbico (6)	Fóbico (8)	Ñ fóbico (6)	Fóbico (8)
Arfar	0,3 (2)	2,25 (7)	1 (2)	3,1 (7)	0,16 (1)	1 (5)	0,66 (2)	1,25 (5)
Tremer	0,16 (1)	2,87 (7)	1,5 (2)	4 (8)	0,3 (1)	0,75 (4)	0 (6)	2,25 (8)
Esconder	0,5 (3)	3 (7)	2 (3)	4,1 (8)	0,16 (1)	0,75 (4)	0,5 (3)	2,125 (7)
Proc. pess,	0,16 (4)	2,87 (7)	1,83 (3)	4 (7)	0,5 (1)	0,37 (2)	0,5 (3)	0,87 (3)
Inquietação	0,3 (1)	2,25 (6)	1,83 (3)	2,37 (6)	0,5 (1)	0,75 (3)	0,16 (1)	1,37 (5)
Vocalização	0,5 (2)	2,25 (8)	1,5 (2)	1,35 (5)	0,3 (1)	0,25 (2)	0 (6)	0,25 (2)
Atit. dest	0 (6)	1 (2)	0,83 (1)	0,25 (1)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)
Salivação	0 (6)	1,12 (7)	0,6 (2)	1,75 (6)	0 (6)	0,37 (2)	0 (6)	1 (6)
Eliminação	0,16 (6)	0,75 (4)	0,5 (2)	0,25 (2)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)
Auto destrut.	0 (6)	0,12 (1)	0 (6)	0,37 (2)	0 (6)	0 (8)	0 (6)	0 (8)

Parâmetros comportamentais avaliados pelos proprietários em questionário numa escala de 6 notas (0-5), que avaliaram o nível das reações. Os dados estão apresentados pela média dos escores (média relativa ao numero total de animais do grupo, sendo não-fóbicos 6 animais e fóbicos 8 animais), e entre parênteses nos parâmetros o numero de animais que apresentaram reação. Esses parâmetros são comparados na tabela com a média dos escores do momento som do experimento.

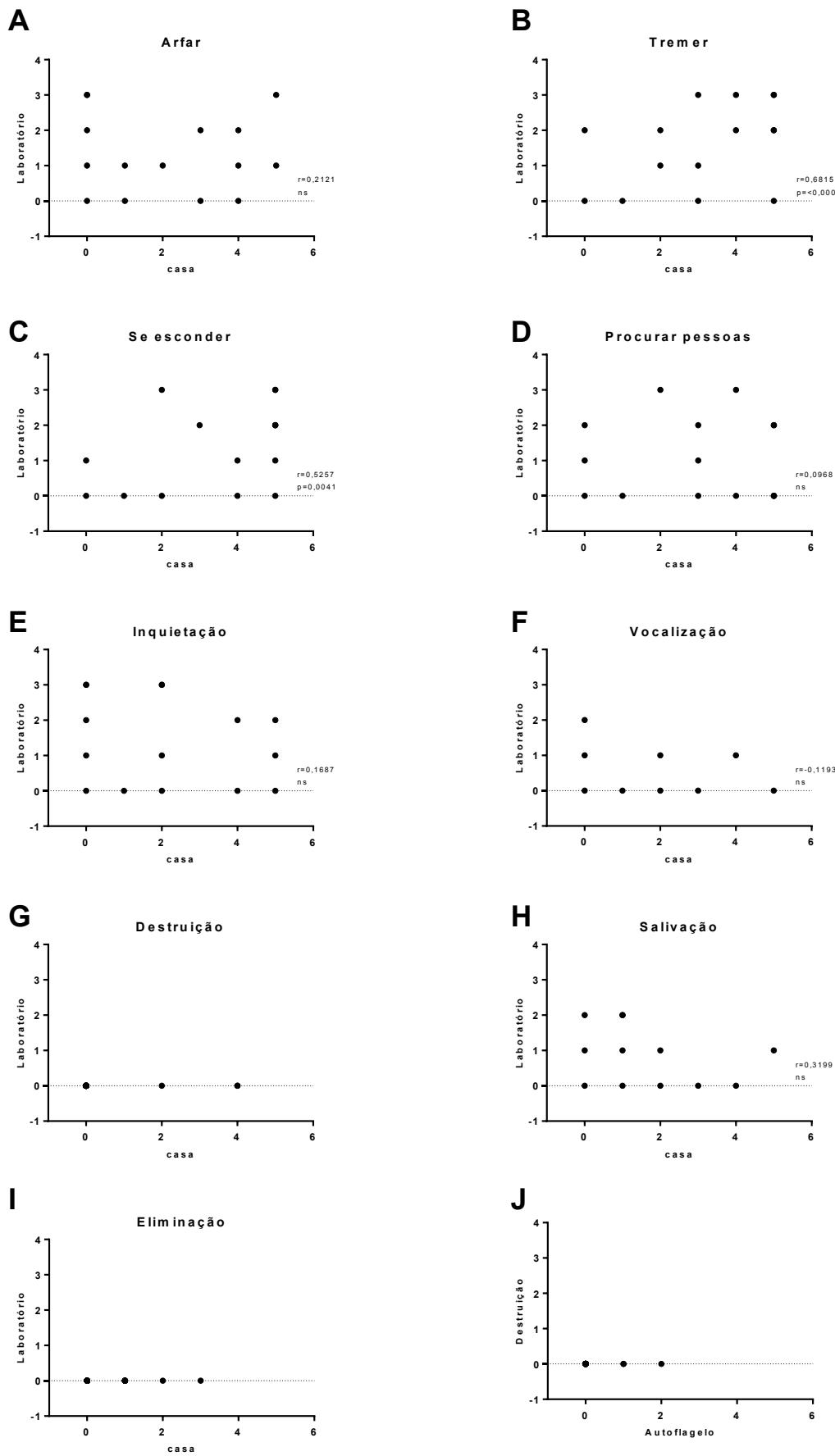


Figura 19: Correlação entre os parâmetros comportamentais induzidos pelo som no laboratório e os parâmetros comportamentais segundo os proprietários. Podemos notar significativa nos parâmetros Tremer e Esconder (teste de Spearman).

Para estudar se parâmetros fisiológicos apresentavam correlação com parâmetros comportamentais, correlacionamos os valores da razão LF/HF e com comportamentos induzidos pelo som no laboratório. Na correlação entre os valores da razão LF/HF e os parâmetros comportamentais induzidos pelo som no laboratório, através da análise de Spearman foram significativos: **Arfar** $r= 0,5007$ ($p=0,0067$); **Tremor** $r= 0,587$ ($p=0,0010$); **Se Esconder** $r= 0,5508$ ($p=0,0024$); **Fugir** $r= 0,503$ ($p=0,0059$); **Inquietação** $r= 0,443$ ($p=0,0181$); **Vigilância** $r= 0,714$ ($p<0,0001$); **Salivação** $r= 0,562$ ($p=0,00018$), e **Sobressalto** $r= 0,3909$ ($p=0,0397$). Os parâmetros **Submissão**, **Procurar por Pessoas** e **Vocalização** não apresentaram correlação positiva com os valores da VIC.(Figura 20). Os parâmetros eliminação e destruição não foram analisados uma vez que nenhum animal apresentou estes comportamentos durante o experimento.

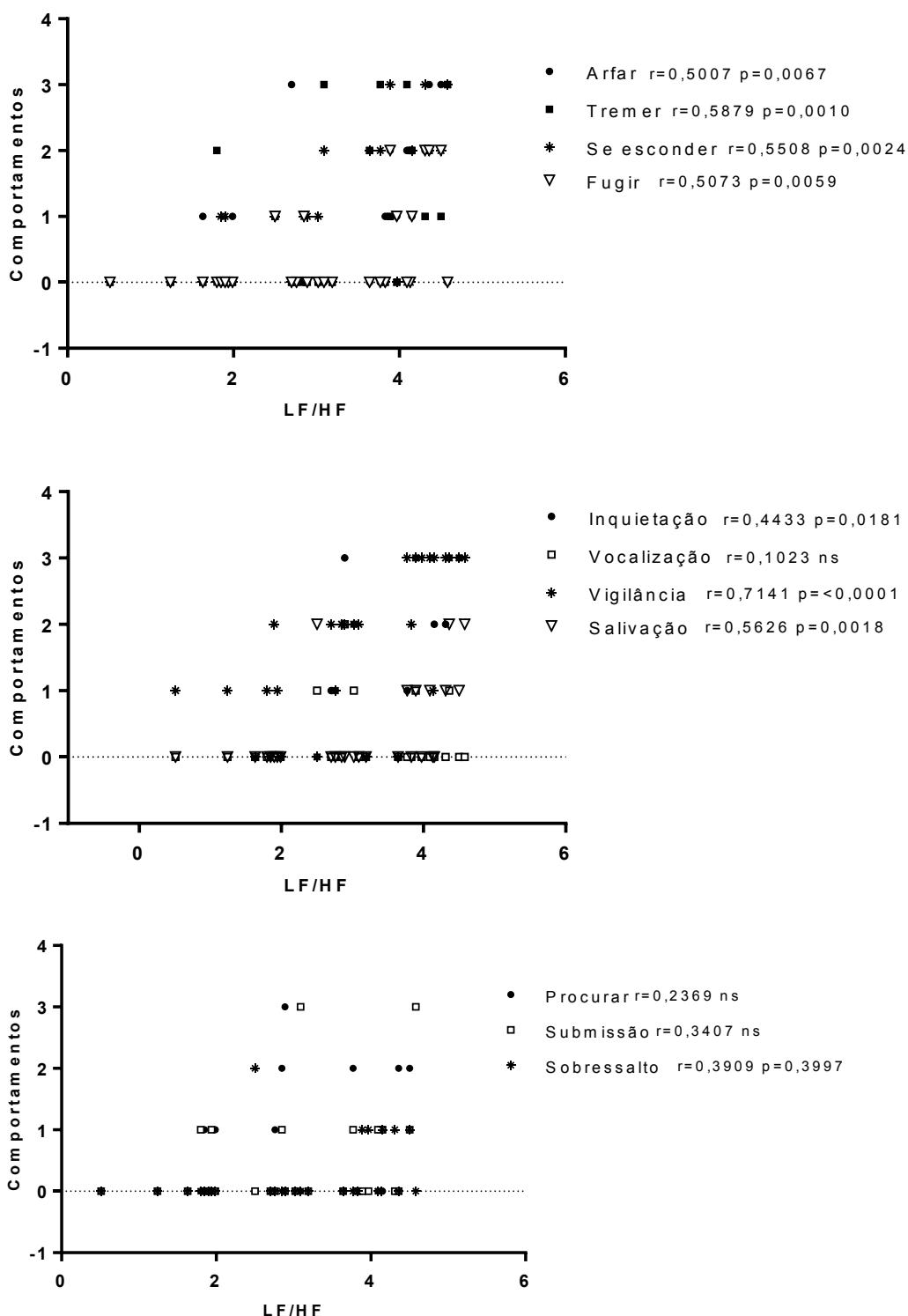


Figura 20: Correlação entre os parâmetros comportamentais induzidos pelo som no laboratório e a razão LF/HF. Apresentando correlação significativa em: Arfar ($p=0,0067$); Tremor ($p=0,0010$); Se Esconder ($p=0,0024$); Fugir ($p=0,0059$); Inquietação ($p=0,0181$); Vigilância ($p<0,0001$); Salivação ($p=0,00018$), e Sobressalto ($p=0,0397$), e os parâmetros que não foram: Submissão, Procurar por Pessoas, e Vocalização.

5 DISCUSSÃO

O objetivo principal deste estudo foi verificar as respostas fisiológicas em resposta ao estresse sonoro agudo de cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e fogos de artifício. Para tal avaliamos o balanço simpato-vagal analisado através da variabilidade do intervalo cardíaco e 14 parâmetros comportamentais, além da coleta de amostras sanguíneas em seis momentos diferentes para posterior dosagem do cortisol.

Além disso, comparamos características socioeconômicas dos proprietários, características gerais e de manejo de cães fóbicos com de cães não fóbicos; e estudamos a correlação entre os dados.

5.1 Perfil dos proprietários e manejo dos animais

Os proprietários de cães do município de Seropédica dos bairros das imediações da UFRRJ que participaram da pesquisa foram em sua maioria pessoas com nível superior de escolaridade, principalmente médicos veterinários (ou graduandos em medicina veterinária). Este perfil indica pessoas que além de terem conhecimento mais abrangente sobre o mundo animal, demonstraram se preocupar com a saúde e bem estar de seus cães, além de terem interesse em colaborar com a pesquisa animal de um modo geral.

Outro aspecto importante com relação aos proprietários é que muitos adotaram cães de rua e sem raça definida. Este comportamento pode indicar um interesse com a situação atual dos cães no município, que não possui centro de controle de zoonoses e acumula nas ruas uma grande quantidade de animais errantes, e/ou a compaixão pela situação dos animais abandonados.

Não foi observada diferença no perfil de proprietários de animais fóbicos e não fóbicos. Estes resultados eram esperados uma vez que nossa amostra de cães é limitada e com uma população muito homogênea. Além disso não há relatos na literatura que mostrem características socioeconômicas específicas de proprietários de cães com histórico de fobia.

Quanto aos animais participantes, as diferenças de raça, peso, idade, sexo, e castração, neste estudo não parecem ter relação com a fobia a sons de trovão e fogos de artifício. Dessa forma nessa população avaliada não foi possível traçar um perfil de

animais fóbicos. Apesar de não haver na literatura dados específicos sobre a prevalência de fobia a sons em cães, é realmente aceito que todas as raças e ambos os sexos são suscetíveis a essa fobia (OVERALL et al., 2001; VOITH & BORCHELT, 1985).

Nas características de manejo verificadas nesse estudo quase 100% dos cães tiveram mudanças na rotina familiar no último ano em ambos os grupos, não caracterizando um possível motivo para o aparecimento ou piora do quadro de fobia segundo os proprietários.

Os animais em sua maioria e sem distinção entre os grupos moram em casas com quintal, e dormem no quintal em área apropriada, não ocorrendo diferenças importantes na rotina. Ou seja, os animais não tinham restrição de espaço e não foi identificado nenhum tipo de estresse crônico que pudesse desencadear a fobia. Blackwell e colaboradores (2005) avaliaram dados de um questionário respondido por 34 proprietários sobre fobia a sons e não encontraram correlação significativa entre o manejo dos cães e o fator fobia. No entanto sugerem que as interações do proprietário com animal são muitas vezes complexas e que esse aspecto exige mais estudos observacionais para compreensão de como o manejo poderia influenciar na reação de medo em cada cão.

Os parâmetros comportamentais mais frequentes e intensos assinalados pelos proprietários no questionário de avaliação de fobia foram: arfar, tremer, se esconder, procurar por pessoas, inquietação, vocalização e salivação. Os parâmetros destruição, eliminação e autoflagelo não foram descritos significativamente pelos proprietários no presente estudo. Estes dados diferem dos descritos anteriormente que indicaram a destruição, eliminação e autoflagelo como comportamentos frequentes (BRANSON & ROGERS, 2006; CROWELL-DAVIS, 2003; OVERALL et al., 2001; DRESCHEL & GRANGER, 2005), provavelmente pela característica mencionada anteriormente, de que a grande maioria dos cães avaliados nessa pesquisa viviam em espaço amplo pois, em boa parte dos casos as atitudes destrutivas estão relacionadas a tentativas de fuga de cães contidos em um determinado espaço físico. Nesse contexto Mills e colaboradores (2003) também não observaram ocorrência significativa de destruição, eliminação e autoflagelo num estudo onde foram avaliados alterações comportamentais em 48 cães submetidos a sons de fogos de artifício reais (festa local), na presença de seus proprietários. Os cães utilizados no estudo tinham histórico de fobia a sons altos e os parâmetros comportamentais foram avaliados por seus donos durante o período de

duração dos fogos de artifício. Os autores não tiveram controle da intensidade e a duração do estímulo sonoro a que os cães foram submetidos. Em uma escala de escores de 0 a 3, os parâmetros arfar, tremer, inquietação e se esconder apresentaram média 3 em todos os cães avaliados, os parâmetros postura de submissão, procurar pelo dono, vigilância e sobressalto apresentaram nota 2 de média e os parâmetros correr em disparada e fugir, média 1.

Em uma pesquisa realizada no Reino Unido com mais de 3.500 proprietários de cães recrutados *on-line*, foram revisados a ocorrência de sinais e os fatores de risco associados com a sensibilidade a sons (IIMURA, 2006). Nesta grande amostra (maior já descrita), 2.577 proprietários relataram ter um cão com aversão a sons. Os tipos de sons que induziram maiores aversões foram: fogos de artifício ($n = 836$), seguido por tempestades ($n = 817$) e tiros ($n = 430$). Uma descoberta interessante da entrevista com os proprietários foi que os cães com histórico de fobia de início não agudo mostraram sinais de respiração ofegante, agitação, hipervigilância, tremor e eliminação. O que indica sinais de excitação autonômica associadas a ansiedade ou antecipação de um evento aversivo iminente. No entanto, os cães com histórico de fobia com início agudo, mostraram sinais como esconder, agachar-se e inquietação, em resposta aos sons. Esses comportamentos sugerem um medo ostensivo e estratégia de fuga. Os autores sugerem que a fobia de início agudo parece estar associada com uma resposta de medo, enquanto que a fobia de inicio não agudo parece ser associada a uma resposta de ansiedade (IIMURA, 2006; IIMURA et al., 2007).

No presente estudo foi relatado pelos proprietários que seus cães sempre apresentaram o comportamento de fobia a sons de trovão/ fogos de artifício, ou que não sabem dizer quando começou, pois passaram a conviver com cão já depois de adulto. Isso provavelmente tem fortes relações com a origem dos cães dos grupos fóbicos (trovão e fogos), onde 50% foram recolhidos da rua, 25% de doação, 12% de compra e somente 12% acompanhados desde o nascimento. Dessa forma diante das evidências descritas por Iimura, para maior entendimento das características de medo e ansiedade, se faz necessário um estudo mais detalhado e com um maior numero de animais a fim de avaliar o início das reações exageradas ao som e seus possíveis fatores desencadeadores.

O aparecimento das respostas fóbicas a sons acredita-se estar associado ao trauma de exposição (SHERMAN & MILLS, 2008). No entanto, os dados de Iimura e

colaboradores (2006; 2007) sugerem que esta não é a situação na maioria casos. Outros possíveis mecanismos para o desenvolvimento de aversão ao estímulo incluem a desabituação induzida pelo estresse, a sensibilização, e a transmissão social. O papel da habituação na prevenção de medos tem sido bem documentada em diversos estudos (CROWELL-DAVIS, 2003; OVERALL et al., 2001; SHERMAN & MILLS, 2008). A exposição a fogos de artifício, ruídos de motor, aspiradores de pó, vozes de crianças, e outros sons do cotidiano do meio urbano parecem ter um efeito protetor ao aparecimento de comportamentos fobicos (IIMURA, 2006). Deste modo diante de tantas possibilidades a causa ou as causas parecem estar ligadas a diversos fatores de caráter individual, não existindo ainda descrição concreta de um único fator desencadeador.

Com relação às reações de fobia a som de trovão, Crowell-Davis (2003) e Overall e colaboradores (2001), sugerem uma investigação cautelosa, pois tais reações podem ocorrer não pela fobia ao som, mas sim dos efeitos dos diferentes fenômenos que envolvem uma tempestade como nuvens escuras no céu, ventos fortes, alterações na pressão barométrica, concentração de ozônio e campo eletroestático. A etiologia desse transtorno ainda não é conhecida com precisão, mas Dodman (1996) propôs que a eletricidade estática pode em alguns casos levar a estímulos dolorosos e, possivelmente transformar uma leve ansiedade em grave fobia de tempestade. Outros autores, contudo acreditam que a fobia de tempestade seja essencialmente uma fobia a som e que o cão se torna secundariamente condicionado a temer os outros aspectos da tempestade (SHERMAN E MILLS, 2008). Dessa forma, parece ainda haver divergências quanto à diferenciação entre a fobia de tempestade e a fobia de sons de trovão e outros sons.

No presente estudo averiguamos as respostas à fobia a sons, e a formação de grupos aos dois diferentes estímulos sonoros (trovão e fogos) não tendo a intenção de reproduzir qualquer um dos outros aspectos da tempestade, nem de diferenciar uma da outra.

Ansiedades, medos e fobias são queixas comportamentais comuns e problemáticas relatadas pelos proprietários dos cães. E a falta de tratamento pode resultar no rompimento do vínculo humano-animal e posterior abandono, desistência, ou até mesmo eutanásia do cão afetado (SHERMAN & MILLS, 2008). Dessa maneira estudos que colaborem para um maior conhecimento da etiologia, casuística e possíveis tratamentos são de grande importância na atualidade.

5.2 Variabilidade do Intervalo Cardíaco (VIC) e o estresse sonoro agudo

Situações de estresse sonoro agudo são capazes de desencadear comportamentos de luta ou fuga através de mecanismos neurais que levam à ativação do SNA (WESTMAN & WALTERS, 1981; PASSCHIER-VERMEER & PASSCHIER, 2000; PRIOR, 2006). No presente estudo o modelo de estresse sonoro agudo utilizado em cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício teve como um dos principais objetivos acessar e analisar as respostas autonômicas (através da análise da VIC).

Nossos resultados mostraram um aumento significativo na razão LF/HF, no momento do som em relação aos momentos basal 1, basal 2 e pós-som em todos os grupos estudados (ANOVA de duas vias para medidas repetidas foi significativa no fator tempo). Estes dados confirmam nossos dados prévios onde o modelo de estresse sonoro de sons de trovão foi avaliado em cães Beagles de experimentação sem histórico de fobia (MACCARIELLO, 2012), afirmando este modelo como indutor de ativação autonômica mesmo em cães não fóbicos.

A análise da VIC durante o estresse sonoro em cães é extremamente relevante, pois permite acessar o balanço autonômico independentemente de outros fatores que alteram a Frequência Cardíaca (FC). Em cães no repouso, os efeitos vagais sobre o coração predominam sobre efeitos simpáticos (LITTLE et al., 1999), e quando ocorre aumento na atividade física, há um incremento da ativação simpática. Ainda assim, os dois ramos do SNA possuem a habilidade de atuar de forma simultânea ou independente um do outro, na regulação da atividade cardíaca. Sendo assim, o aumento da atividade vagal não resulta instantaneamente na redução da simpática e vice-versa. Desse modo, não é possível determinar as características regulatórias do SNA, simplesmente, através da mensuração da FC (VON BORELL et al., 2007). Ainda assim, a FC pode ser considerada como um índice indireto de estresse, sendo importante a sua análise, em conjunto com outros parâmetros. A análise espectral da VIC, tendo como parâmetro principal a razão LF/HF, que permite uma determinação mais precisa da regulação funcional do SNA, em resposta ao estresse psicológico e fisiológico já que estados psicológicos podem ter um impacto no balanço simpato-vagal sem, necessariamente vir seguido de alterações na frequência cardíaca e/ou respiratória (STAUSS, 2003).

Nossos dados também mostraram que cães fóbicos têm um aumento da razão LF/HF significativamente maior que cães não-fóbicos e que o tipo de estímulo (trovão x fogos) não interfere na resposta autonômica, já que não houve diferença entre grupos submetidos ao trovão e aos fogos.

A ausência de diferença na reatividade a sons de trovão e de fogos pode indicar que na população de cães fóbicos avaliada, provavelmente os cães apresentavam fobia a sons e não à tempestade como discutido por Dodman (1996) e Crowell-Davis (2003). Vale lembrar que muito provavelmente os animais vivenciaram tempestades já que segundo *ranking* divulgado pelo Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) a região sudeste do Brasil é a campeã em incidência de raios e tempestades.

Ao contrário do que era esperado, em nosso estudo, a frequência cardíaca média não aumentou significativamente no momento do som nos grupos não-fóbicos (trovão e fogos), mas apenas nos grupos fóbicos (trovão e fogos). Porém isso reforça a importância da análise da VIC, demonstrando que nem sempre a ativação autonômica poderá ser baseada em um parâmetro tão geral como a FC média, visto que esses resultados podem estar encobertos pelo aumento da FC não previsto nos momentos basal 1 e basal 2. Já os animais fóbicos apresentam maior sensibilidade aos estímulos em geral apresentando parâmetros mais facilmente alterados. A FC média do momento som (2,5 min), não demonstra um grande aumento instantâneo nos primeiros segundos do estímulo sonoro e apresenta uma redução na FC após o sobressalto (decorrentes da ativação parassimpática).

O parâmetro RMSSD (que indica ativação vagal), teve uma queda no momento som, indicando menor ação vagal. Demonstrando que, o modelo foi capaz de promover uma retirada vagal no momento do som, porém sem alterações significativas entre os cães fóbicos e não-fóbicos.

Diferente da razão LF/HF, os parâmetros LF e HF analisados separadamente não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Isso pode ter ocorrido devido às variações individuais, que no todo do grupo passam a não ser percebidas estatisticamente.

Até o presente momento não foram encontrados estudos ocidentais que avaliaram a VIC em cães submetidos a modelos de estresse sonoro agudo, fora os do presente grupo de pesquisa, com seu primeiro estudo na área feito por Maccariello (2012). No entanto, nossos resultados adicionam e confirmam evidências apresentadas

em trabalhos anteriores onde estímulos sonoros de alta intensidade têm sido considerados estressores tanto em animais como no homem. Estudos relatam o aumento na frequência cardíaca média em animais submetidos a sons de alta intensidade (ENGELAND et al., 1990), além disso, a exposição aguda a sons acima de 90 dB é capaz de estimular o SNS, aumentando a liberação de adrenalina e noradrenalina (ISING et al., 1999). Beerda e colaboradores (1998) estudaram os níveis de cortisol e a frequência cardíaca em cães saudáveis submetidos a um protocolo de estresse sonoro agudo, onde foi utilizada uma intensidade sonora de 110 -120 dB, com duração de 2 segundos, repetida por três vezes com intervalos de 30 segundos. Este estudo evidenciou um aumento significativo nos níveis de cortisol salivar, ao comparar com os animais antes do estímulo, nos tempos: 10, 15 e 30 minutos após a exposição ao som. No entanto não houve diferenças significativas na frequência cardíaca, já que foram detectadas frequências cardíacas muito altas antes do som, provavelmente devido a condições pré-estímulo não controladas. Em outro estudo do mesmo autor, foi utilizado um som de intensidade sonora de 95 dB durante 6, 12 e 18 minutos que produziu um aumento gradativo na FC média de 25, 35 e 54% respectivamente. Também foi verificado o aumento nos níveis de cortisol salivar durante o estímulo demonstrando níveis gradativamente mais elevados conforme o aumento da duração do som (10, 14, 24 mmol/L) (BEERDA et al., 1997).

5.3 Análise das reações comportamentais induzidas pelo som

Durante o presente estudo, a maioria dos animais apresentou as reações comportamentais estudadas apenas no momento do estímulo sonoro. O que sugere que o ambiente onde foi realizado o experimento não foi aversivo para os animais. As reações mais frequentes em todos os cães foram: vigilância, tremer e se esconder. No entanto, animais do grupo fóbicos/fogos apresentaram maiores escores nos parâmetros tremer, se esconder, vigilância e salivação que os outros grupos.

Nossos resultados demonstram que na análise comportamental todos os grupos apresentaram escores aumentados no momento do som. O grupo fóbicos/fogos não foi diferente estatisticamente do grupo fóbicos/trovão, mas apresentou diferença estatisticamente significativa com relação aos grupos não-fóbicos.

No estudo de Branson & Rogers (2006), 31 cães historicamente fóbicos a sons foram submetidos a sons de trovão e fogos de artifício em seu ambiente doméstico. Neste caso, 16 cães foram submetidos primeiramente ao som de trovão e outros 15

primeiramente ao som de fogos de artifício, onde cada som foi reproduzido por 2 minutos a 80-100 db e, filmados para posterior avaliação das respostas comportamentais. Estes autores verificaram não haver diferença significativa entre os dois estímulos no grupo de cães testados, confirmando nossos dados.

Vale ressaltar que como detectamos diferenças na razão LF/HF tanto induzidas pelo trovão como por fogos, a análise da VIC parece ser um parâmetro mais sensível para detectar reações do que a análise comportamental, que apesar de ter um padrão por espécie, pode ter respostas e reações muito individuais. Dessa forma as avaliações em conjunto se mostram ferramentas mais eficientes.

5.4 Correlações entre dados

Como observado nos resultados ao correlacionar as reações comportamentais dos cães descritas pelos proprietários numa situação natural de trovão ou fogos de artifício e as exibidas em laboratório durante o modelo de estresse sonoro, apenas os parâmetros tremer e esconder apresentaram correlação significativa. Enquanto os parâmetros arfar, procurar por pessoas, inquietação, vocalização e salivação não tiveram correlação significativa. Demonstrando que apesar do modelo de estresse sonoro agudo em cães ter imensas vantagens quanto a padronização do teste e consequentemente das respostas dos animais testados de modo geral, os animais parecem não demonstrar em laboratório todos os parâmetros significativos observados em casa. Porém isso pode ter ocorrido devido ao teste ser feito com um som fantasia padronizado a uma intensidade sonora específica, talvez não tão alta quanto a que ocorre quando estão em casa. Além de não estarem na presença de seus proprietários no laboratório, e sendo completamente ignorados pelos pesquisadores, provavelmente diferente da forma como são normalmente tratados em suas casas nesses momentos de tensão. E também devido ao fator de opinião pessoal de cada proprietário ao ter respondido o questionário, que pode variar não necessariamente relatando a realidade.

Nesse sentido, muitos dos autores que utilizam esses parâmetros para avaliar as respostas comportamentais costumam fazer filmagens no próprio ambiente familiar do animal para posterior análise das imagens (CROWELL-DAVIS, 2003; MILLS et al., 2003; BRANSON & ROGERS, 2006).

Para estudar se os parâmetros autonômicos apresentavam correlação com parâmetros comportamentais, os valores da razão LF/HF foram correlacionados com comportamentos induzidos pelo som no laboratório. Os parâmetros Arfar, Tremer, Se

Esconder, Fugir, Inquietação, Vigilância, Salivação e Sobressalto tiveram correlações significativas, o que pode indicar que estes sejam parâmetros mais fidedignos na análise da resposta de estresse. Como normalmente encontrado em estudos de correlação de dados fisiológicos com comportamentais, os parâmetros Submissão, Procurar por Pessoas e Vocalização não foram correlacionados com a razão LF/HF.

5.5 O Modelo de Estresse Sonoro Agudo em Cães

Embora existam diferenças entre a reprodução de uma gravação de som e os eventos reais de trovoadas e fogos de artifício, esta técnica tem sido utilizada em diversas pesquisas para categorizar a reatividade de cães para estes sons especificamente (BRANSON & ROGERS, 2006; CROWELL-DAVIS, 2003; DRESCHEL & GRANGER, 2005)

O uso da variabilidade do intervalo cardíaco, teste comportamental, e verificação dos níveis de cortisol, são importantes ferramentas para avaliar e monitorizar bem-estar animal (BERGAMASCO et al., 2010) e o estresse em cães.

Entre a aplicabilidade do modelo utilizado neste trabalho, podemos listar como vantagens que:

- O som foi padronizado a uma intensidade sonora máxima de 103 -104 dB, por ser uma pressão sonora capaz de gerar respostas fisiológicas e comportamentais de estresse em cães, estando abaixo dos limites que poderiam causar danos ao aparelho auditivo (ISING et al., 1999).
- É um modelo de relativa fácil execussão.
- A avaliação comportamental teve êxito uma vez que os cães se adaptaram bem ao local, não demonstrando alterações no momento basal. Essa padronização de manejo possibilitou que os animais respondessem livremente ao estímulo sonoro, sem a influência de outros fatores como interações diferenciadas com os proprietários e outros animais.
- O uso do frequencímetro se mostrou um recurso vantajoso por ser não invasivo, ser leve e não incomodar o animal, além de ser de baixo custo. Permitindo que os animais ficassem à vontade (BERGAMASCO et al., 2010).
- Uma vantagem importante é que a população de estudo é de fácil acesso, uma vez que são animais domésticos de companhia, em geral com temperamento dócil, que apresentam alta casuística de problemas decorrentes do estresse

sonoro, com ocorrência em ambos os gêneros (fêmeas e machos), nas diferentes raças, e vem sendo utilizada em várias pesquisas referentes à fobia a sons, através de divulgação da pesquisa e entrevista com proprietários (BRANSON & ROGERS, 2006; CROWELL-DAVIS, 2003; OVERALL et al., 2001; DRESCHEL & GRANGER, 2005; SHERMAN & MILLS, 2008; COTTAM & DODMAN, 2009; CRACKNELL & MILLS, 2007; IIMURA, 2006; IIMURA ET AL., 2007).

- Overall e colaboradores (2001) descrevem que os cães apresentam distúrbios de comportamento que podem ser homólogos a alguns transtornos psiquiátricos em seres humanos. Na presente pesquisa foi possível através de um problema comportamental de alta incidencia no cão produzir dados sobre a reação ao estresse na fobia a sons. Demonstrando que esse modelo pode ser usado para o estudo de novos caminhos terapeuticos, que busquem minimizar não só os danos neuroendócrinos ja discutidos, como o bem estar emocional desses indivíduos.
- Pode ser utilizado com diferentes estímulos sonoros.

6 CONCLUSÕES

- Não foram observadas diferenças no perfil socioeconômico de proprietários de animais fóbicos e não fóbicos.
- Não foram observadas diferenças nas características gerais (raça, peso, idade, gênero e castração) e nem nas características de manejo entre animais com histórico de fobia a sons de trovão/fogos de artifício e animais sem histórico de fobia.
- Os parâmetros comportamentais mais frequentes e com escores mais altos relatados pelos proprietários em situações de trovão ou fogos de artifício foram: arfar, tremer, se esconder, procurar por pessoas, inquietação, vocalização e salivação. Os parâmetros destruição, eliminação e autoflagelo não foram descritos pelos proprietários no presente estudo.
- Tanto o som de trovão como o som de fogos são capazes de produzir aumento da razão LF/HF nos animais não-fóbicos e nos animais fóbicos. No entanto, a magnitude do aumento na razão LF/HF produzida pelo som é significativamente maior em animais fóbicos do que em animais não-fóbicos.
- Nossos dados também mostraram que o tipo de estímulo (trovão x fogos) não interfere na resposta autonômica, já que não houve diferença entre grupos submetidos ao trovão e aos fogos.
- O modelo de estresse sonoro agudo produziu um aumento nos parâmetros: vigilância, tremer e se esconder.
- Apenas animais fóbicos submetidos ao som de fogos pelo modelo apresentaram respostas comportamentais significativamente mais intensas que cães não-fóbicos nos parâmetros tremer, se esconder, vigilância e salivação.
- Cães fóbicos submetidos ao som de trovão não apresentaram respostas comportamentais significativamente diferentes de animais não-fóbicos.
- As respostas comportamentais descritas pelos proprietários e as exibidas pelos cães durante o modelo de estresse foram correlacionadas apenas nos parâmetros tremer e se esconder. Não havendo correlação nos parâmetros arfar, procurar por pessoas, inquietação, vocalização e salivação. Nenhum animal exibiu os comportamentos de eliminação e destruição.

- Na correlação entre os valores da razão LF/HF e os parâmetros comportamentais induzidos pelo som no laboratório foram significativos arfar, tremer, se esconder, fugir, inquietação, vigilância, salivação e sobressalto. Os parâmetros submissão, procurar por pessoas e vocalização não apresentaram correlação significativa com os valores da VIC. Os parâmetros eliminação e destruição não foram analisados uma vez que nenhum animal apresentou estes comportamentos durante o experimento.

O modelo utilizado foi capaz de gerar alterações comportamentais e autonômicas características de estresse, em cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e fogos de artifício. Podendo ser empregado nas pesquisas de novos caminhos terapêuticos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKANA, S. F.; DALLMAN, M. F.; BRADBURY, M. J.; SCRIBNER, K. A.; STRACK, A. M.; WALKER, C. D. Feedback and facilitation in the adrenocortical system: unmasking facilitation by partial inhibition of the glucocorticoid response to prior stress. **Endocrinology**. v.131, p.57-68, 1992.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION et al. **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: texto revisado (DSM-IV-TR)**. Artmed, 2002.

APPLEBY, D.; PLUIJMAKERS, J. Separation anxiety in dogs: the function of homeostasis in its development and treatment. **Clinical techniques in small animal practice**, v. 19, n. 4, p. 205-215, 2004.

BATESON, P.; BARKER, D.; CLUTTON-BROCK, T.; DEB, D.; D'UDINE, B.; FOLEY, R. A.; GLUCKMAN, P.; GODFREY, K.; KIRKWOOD, T.; LAHR, M. M.; McNAMARA, J.; METCLAFE, N. B.; MONAGHAN, P.; SPENCER, H. G.; SULTAN, S. E. Developmental plasticity and human health. **Nature**, v. 430, n. 6998, p. 419-421, 2004.

BEAVER, B. **Canine behavior: insights and answers**. Elsevier Health Sciences, 2009.

BEERDA, B.; SCHILDER, M. B.H.; JANSSEN, N.S.C.R.M.; MOL, J.A. The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress responses in dogs. **Hormones and Behavior**, v.30, 272-279, 1996.

BEERDA, B.; SCHILDER, M.B.H.; BERNADINA, W.; VANHOOFF, J.A.R.A.M.; DEVRIES, H.W.; MOL, J.A. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. II: Hormonal and immunological responses. **Physiology & Behavior**, v. 66, 243–254, 1999.

BEERDA, B.; SCHILDER, M. B. H.; VAN HOOF, J.A.R.; DE VRIES, H. W.; MOL, J.A. Behavioural, saliva cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs. **Applied Animal Behaviour Science**. V. 58, p. 365-381, 1998.

BEERDA, B.; SCHILDER, M. B. H.; VAN HOOF, J.A.R.; DE VRIES, H. W. Manifestations of chronic and acute stress in dogs. **Applied Animal Behaviour Science**. V. 52, p. 307-319, 1997

BERGAMASCO, L.; OSELLA, M. C.; SAVARINO, P.; LAROSA, G.; OZELLA, L.; MANASSERO, M.; RE, G. Heart rate variability and saliva cortisol

assessment in shelter dog: Human-animal interaction effects. **Applied Animal Behavior Science**, 125(1), 56-68. 3332010.

BERGERON R.; SCOTT, S. L.; EMOND, J. P.; MERCIER, F.; COOK, N.J.; SCHAEFER, A.L. Physiology and Behavior of Dogs During Air Transport. **Canadian Journal of Veterinary Research**. V.66, p.211–216, 2002.

BERNARD, L. C.; KRUPAT, E. Health Psychology: Biopsychosocial Factors in Health and Illness. New York: **Harcourt Brace College Publishers**. 1994.

BLACKWELL, E.; CASEY, R.; BRADSHAW, J. Firework fears and phobias in the domestic dog. **University of Bristol, RSPCA**, 2005.

BRANSON, N. J.; ROGERS, L. J. Relationship between paw preference strength and noise phobia in *Canis familiaris*. **Journal of Comparative Psychology**, v. 120, n. 3, p. 176, 2006.

BROOM, D. M.; FRASER, A. F.; **Behaviour and welfare of domestic animals**. Editora Manole Ltda, 2010.

BROOM, D.M.; JOHNSON, K. G. Stress and Animal Welfare. **London: Chapman & Hall**, p. 211. 1993.

CHARNEY, D.S.; HENINGER, G. R.; BREIER, A. Noradrenergic function in panic anxiety: effects of yohimbine in healthy subjects and patients with agoraphobia and panic disorder. **Archives of General Psychiatry**, v. 41, n. 8, p. 751-763, 1984.

CHROUSOS, G. P.; LORIAUX, D. L.; GOLD, P. W. Mechanisms of physical and emotional stress. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. V.245, p.3-11, 1988.

CHUDASAMA Y.; IZQUIERDO A.; MURRAY E. A.; Distinct contributions of the amygdala and hippocampus to fear expression. **European Journal Neuroscience**. 30:2327–2337. [PubMed: 20092575] 2009.

COTTAM, N.; DODMAN, N. H. Comparison of the effectiveness of a purported anti-static cape (the Storm Defender®) vs. a placebo cape in the treatment of canine thunderstorm phobia as assessed by owners' reports. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 119, n. 1, p. 78-84, 2009.

CRACKNELL, N. R.; MILLS, D. S. A double-blind placebo-controlled study into the efficacy of a homeopathic remedy for fear of firework noises in the dog (*Canis familiaris*). **The Veterinary Journal**, v. 177, n. 1, p. 80-88, 2008.

CROWELL-DAVIS, S. L.; SIEIBERT, L. M.; SUNG, W.; PARTHASARATHY, V.; CURTIS, T. M. Use of clomipramine, alprazolam, and

behavior modification for treatment of storm phobia in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 222, n. 6, p. 744-748, 2003.

DARWIN, C. **A origem das espécies**. Rio de Janeiro: Ediouro. (Trabalho original publicado em 1860), 2004.

DE KLOET, E. R.; OITZL, M. S.; JOËLS, M. Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? **Trends in Neurosciences** V.22, p.422-26, 1999.

DODMAN, N.H. Thunderstruck. In: **The Dog**, Bantam Books, NY, pp. 123-144. 1996.

DRESCHEL, N. A.; GRANGER, D. A. Physiological and behavioral reactivity to stress in thunderstorm-phobic dogs and their caregivers. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 95, n. 3, p. 153-168, 2005.

ELIAS, L. L. K.; CASTRO, M. Controle Neuroendócrino do Eixo HHA. In: ANTUNES- RODRIGUES, J. **Neuroendocrinologia Básica Aplicada**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap.13, p.180-181. 2005.

ENGELAND, W. C.; MILLER, P.; GANN, D. S. Pituitaryadrenal and adrenomedullary responses to noise in awake dogs. **The American Physiology Society**. V. 2, p. 285, 1990.

FEINSTEIN, Justin S. et al. The human amygdala and the induction and experience of fear. **Current biology**, v. 21, n. 1, p. 34-38, 2011.

FRANCI, C. R. Estresse: Processos adaptativos e não adaptativos. In: ANTUNES- RODRIGUES, J. **Neuroendocrinologia Básica Aplicada**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap.15, p.210-223, 2005.

GEVERINK, N.A., SCHOUTEN, E.G., GORT, G., WIEGANT, V.M., Individual differences in behavioural and physiological responses to restraint stress in pigs. **Physiol. Behav.** 77, 451-457, 2002.

GUE M, FIORAMONTI J, FREXINOS J, ALVINERIE M, BUENO L. Influence of acoustic stress by noise on gastrointestinal motility in dogs. **Digestive diseases and sciences**; 32:1411-1417, 1987.

GUIMARÃES, C. M.; PINGE, M. C. M.; YAMAMURA, Y.; MELLO, L. E. A. M. Effects of acupuncture on behavioral, cardiovascular and hormonal responses in restraint-stressed Wistar rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** V. 12, p.1445-1450. 1997.

GUO, Y.; SHI, X.; UCHIYAMA, H.; HASEGAWA, A.; NAKAGAWA, Y.; TANAKA, M.; FUKUMOTO, I. A study on the rehabilitation of cognitive function and short-term memory in patients with Alzheimer's disease using transcutaneous electrical

nerve stimulation. **Frontiers of Medical & Biological Engineering.** V. 11, n. 4, p. 237-247, 2002.

HAINSWORTH R. The control and physiological importance of heart rate. In: MALIK, M.; CAMM, A. J. **Heart Rate Variability**. Armonk, N.Y.: Futura, p. 3-19. 1995.

HARADA, T.; ABE, J.; SHIOTANI, M.; HAMADA, Y.; HORII, I. Effect of autonomic nervous function on QT interval in dogs. **The Journal of Toxicological Sciences.** V. 30, n.3, p. 229-237, 2005.

HAVERBEKE, A.; DIEDERICH, C.; DEPIERREUX, E. Cortisol and Behavioral Responses of Working Dogs to Environmental Challenges. **Physiology and Behavior.** V. 93, p. 59-67, 2008.

HERMAN, J. P.; ADAMS, D.; PREWITT, C. M. Regulatory changes in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm. **Neuroendocrinology.** V.61, p.180-190, 1995.

HERMAN, J. P.; CULLINAN, W. E. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. **Trends in neurosciences**, v. 20, n. 2, p. 78-84, 1997.

HIBY, E. F.; ROONEY, N. J.; BRADSHAW, J. W. S. Behavioural and physiological responses of dogs entering re-homing kennels. **Physiology and Behavior.** V.89, p. 385-391, 2006.

HOSHI, R. A. Variabilidade da freqüência cardíaca como ferramenta de análise da função autonômica: revisão de literatura e comparação do comportamento autonômico e metabólico em recuperação pós-exercício. **Dissertação**. Unesp. 65-f. 2009.

HWANG, D. S.; KIM, H. K.; SEO, J. C.; SHIN I. H.; KIM, D. H.; KIM, Y. Sympathomodulatory effects of Saam acupuncture on heart rate variability in night-shift-working nurses. **Complementary Therapies in Medicine.** V. 19S, p. 33 – 40, 2011.

HYDBRING-SANDBERG E.; VON WALTER L.; HOGLUND K.; SVARTBERG K.; SWENSON L.; FORKMAN B. Physiological reactions to fear provocation in dogs. **Journal of Endocrinology.** 180:439-448, 2004.

IIMURA K. The nature of noise fear in domestic dogs [MPhil thesis]. **University of Lincoln**, 2006.

IIMURA, K.; MILLS, D. S.; LEVINE, E. An analysis of the relationship between the history of development of sensitivity to loud noises and behavioural signs

in domestic dogs. In: **Proceedings of the 6th International Veterinary Behaviour Meeting and European College of Veterinary Behavioural Medicine-Companion Animals European Society of Veterinary Clinical Ethology. Riccione, June.** p. 70-71. 2007.

ISING, H.; BABISCH, W.; KRUPPA, B. Noise-induced endocrine effects and cardiovascular risk. **Noise and Health.** V.1, p. 37-48, 1999.

IVERSEN, S.; KUPFERMANN, I.; KANDEL, E. R. Sentimentos e Emoções. **Princípios da Neurociência. São Paulo: Manole,** p. 984-995, 2003.

JANKORD, R.; HERMAN, J. P. Limbic regulation of Hypothalamo-Pituitary adrenocortical function during acute and chronic stress. **Annals of the New York Academy of Sciences.** V.1148, p.64-73, 2008.

JOCA, S. R. L.; PADOVAN, C. M.; GUIMARÃES, F. S. Stress, depression and the hippocampus. **Revista Brasileira de Psiquiatria.** v. 25, p. 46-51, 2003.

JONES, A. C.; JOSEPHS, R. A. Interspecies hormonal interactions between man and the domestic dog (*Canis familiaris*). **Hormones and Behavior.** V. 50, p. 393–400, 2006.

KAWASE, M.; KOMATSU, T.; NISHIWAKI, K.; KOBAYASHI, M.; KIMURA, T.; SHIMADA, Y. Heart Rate Variability and Arterial Blood Pressure Variability Show Different Characteristic Changes During Hemorrhage in Isoflurane-Anesthetized, Mechanically Ventilated Dogs. **International Anesthesia Research Society.** V. 94, p. 16-21, 2002.

KESSLER, Ronald C. et al. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Archives of general psychiatry,** v. 62, n. 6, p. 593-602, 2005.

KING, T.; HEMSWORTH, P.H.; COLEMAN, G.J. Fear of Novel and Startling Stimuli in Domestic Dogs. **Applied Animal Behaviour Science.** V. 82, p. 45–64, 2003.

KORTE, S.M.; RUESNIK, W.; BLOKHUIS, H.J. Heart rate variability during manual restraint in chicks from high- and low-feather pecking lines of laying hens. **Physiology Behavior.** 65, 649–652, 1999.

KUWAHARA, M., TSUJINO, Y., TSUBONE, H., KUMAGAI, E., TSUTSUMI, H., TANIGAWA, M., Effects of pair housing on diurnal rhythms of heart rate and heart rate variability in miniature swine. **Experimental Animals.** (Tokyo) 53, 303–309. 2004.

LITTLE, C.J., JULU, P.O., HANSEN, S., REID, S.W., Real-time measurements of cardiac vagal tone in conscious dogs. **Animals Journal Physiology**. 276, H758–H765. 1999.

LOMBARDI, F. Spectral Analysis of Heart Rate Variability. **Cardiac Electrophysiology Review**. V. 3, p. 335-337, 1997.

LOMBARDI, F.; MALLIANI, A.; PAGANI, M.; CERUTTI, S. Heart rate variability and its sympatho-vagal modulation. **Cardiovascular Research**. V. 32, p. 208-216, 1996.

MACCARELLO, C.E.M. Efeitos da acupuntura na variabilidade da frequência cardíaca e no comportamento em cães submetidos ao estresse sonoro agudo. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

MACHADO, L. L. M. Alterações comportamentais e fisiológicas em cães detectores de drogas e explosivos após confinamento em caixas de transporte: influências do estresse no desempenho. **Dissertação** (UnB), 2013.

MALLIANI, A.; MONTANO, N.; PAGANI, M. Physiological Background of Heart Rate Variability. **Cardiac Electrophysiology Review**. V. 3, p. 343-346, 1997.

MANNI, L.; ALOE, L.; FIORE, M. Changes in cognition induced by social isolation in the mouse are restored by electro-acupuncture. **Physiology & Behavior**. V. 98, p. 537–542, 2009.

MANTEUFFEL, G. Central nervous regulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis and its impact on fertility, immunity, metabolism and animal welfare, a review **Arch Tierz**. V. 45, p. 575–595, 2002.

MARGIS, R.; PICON, P.; COSNER, A. F.; SILVEIRA, R. D. O. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 25, n. 1, p. 65-74, 2003.

MARQUES, A. H.; SILVERMAN, M. N.; STERNBERG, E. M. Evaluation of Stress Systems by Applying Noninvasive Methodologies: Measurements of Neuroimmune Biomarkers in the Sweat, Heart Rate Variability and Salivary Cortisol. **Neuroimmunomodulation**. V. 17, p. 205-208, 2010.

MCEWEN, B. S. Neuroendocrine Interactions. In BLOOM, F. E.; KUPFER, D. J. **Psychopharmacology: the fourth generation of progress**. Nova York: American College of Neuropsychopharmacology, 2000.

MCEWEN, B. S. Stress, definition and concepts. In **Encyclopedia of Stress**. G. Fink, ed. Academic Press. San Diego, CA. 3: 508-509. 2000.

MCEWEN, B.S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. **Physiology Review**, p. 873–904. 2007.

MILLS, D. S.; GANDIA E. M.; COLESHAW, P. H.; SHORTHOUSE, C. Retrospective analysis of the treatment of firework fear in dogs. **Veterinary Record**. V. 153, p. 561-562, 2003.

MILLSPAUGH, J.J., WASHBURN, B.E., MILANICK, M.A., BERINGER, J., HANSEN, L.P., MEYER, T.M., Non-invasive techniques for stress assessment in white-tailed deer. **Wildlife Society Bulletin**. 30, 899–907. 2002.

MIZOGUCHI, K.; ISHIGE, A.; ABURADA, M.; TABIRA, T. Chronic stress attenuates glucocorticoid negative feedback: involvement of the prefrontal cortex and hippocampus. **Neuroscience**. V.119, p.887-897, 2003.

MONTANHA, J. C.; SILVA, S. L.; BOERE, V. Comparison of salivary cortisol concentrations in Jaguars kept in captivity with differences in exposure to the public. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1745-1751, 2009.

MOORE, R.; Neuroendocrine Systems: I. The Brain-Pituitary-Adrenal Axis Mediates Response to Stress. **Fundamental Neuroscience**, p. 1137-1147, 1999.

MORBEG, G.P. Biological response to stress: implications for animal welfare. In: MORBEG, G.P. & MENCH, J.A.. The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare. **CABI Publishing**, p. 1-22. 2000.

MORMÈDE, P.; ANDANSON, S.; AUPÉRIN, B.; BEERDA, B.; GUÉMENÉ, D.; MALMKVIST, J.; MANTECA⁺ X; MANTEUFFEL, G.; PRUNET, B.; REENEN, C.G.; RICHARD, S.; VEISSIER, I. Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. **Journal of affective disorders**. V. 91, p. 113-124, 2006.

MORMÈDE, P.; LEMAIRE, V.; CASTANON, N.; DULLUC, J.; LAVAL, M.; LE MOAL, M. Multiple neuroendocrine responses to chronic social stress: interaction between individual characteristics and situational factors, **Physiology and Behavior**. V. 47, p. 1099–1105, 1990.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **CID-10: Classificação Estatística Internacional de Doenças com disquete Vol. 1**. Edusp, 2000.

OVERALL K.L. **Clinical Behavioral Medicine For Small Animals**, 1^a ed. Mosby Inc. Missouri, 544 p., 1997.

OVERALL KL. **Clinical behavioral medicine for small animals**. St. Louis (MO): Mosby; p. 209–50. 1996.

OVERALL KL. Noise reactivities and phobias in dogs: Behavior modification strategies. **DVM Newsmagazine**, 2010.

OVERALL KL. Noise reactivity and phobias in dogs: implementation effective drug therapy Dogs with noise phobias can benefit from drugs administered before or during a causative event of anxiety or even as daily drug therapy lifelong. **DVM Newsmagazine**, 2011.

OVERALL KL. Separation anxiety: not all dogs crated or kenneled successfully. **DVM Newsmagazine**, 2003.

OVERALL, K. L., DUNHAM, A. E., & FRANK, D.. Frequency of nonspecific clinical signs in dogs with separation anxiety, thunderstorm phobia, and noise phobia, alone or in combination. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 219, 467-473, 2001.

PACÁK, K.; PALKOVITS, M. Stressor Specificity of Central Neuroendocrine Responses: Implications for Stress-Related Disorders. **Endocrine Reviews**. v. 22 n. 4, p. 502-548, 2001.

PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; GUZZETTI, S; RIMOLDI, O.; FURLAN, R.; PIZZINELLI, P.; SANDRONE, G.; MALFATTO, G.; DELL'ORTO, S.; PICCALUGA, E.; TURIEL, M.; BASELLI, G.; CERUTTI, S.; MALLIANI, A. Power Spectral Analysis of Heart Rate and Arterial Pressure Variabilities as a Marker of Sympatho-Vagal Interaction in Man and Conscious Dog. **Circulation Research**, v. 59, p. 178-193, 1986.

PARK, H. J.; PARK, H. J; CHAE, Y.; KIM, J.; LEE, H.; CHUNG, J. Effect of Acupuncture on Hypothalamic–Pituitary–Adrenal System in Maternal Separation Rats. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 31, n. 8, p. 1123-1127, 2011.

PASSCHIER – VERMEER, W.; PASSCHIER, W. F. Noise Exposure and Public Health. **Environmental Health Perspectives**, v. 108, p. 123-131, 2000.

PICCIRILLO, G.; OGAWA, M.; SONG, J.; CHONG, V.; JOUNG, B.; HAN, S.; MAGRI, D.; CHEN, L.; LIN, S.; CHEN, P. Power spectral analysis of heart rate variability and autonomic nervous system activity measured directly in healthy dogs and dogs with tachycardia-induced heart failure. **Heart Rhythm Society**, v. 6, n. 4, p. 546-552, 2009.

PORGES, S. W. The polyvagal theory: phylogenetic contributions to social behavior. **Physiology and Behavior**, v. 79, p. 03-13, 2003.

PRIOR, H. Effects of the acoustic environment on learning in rats. **Physiology and Behavior**, v. 87, p. 162-165, 2006.

ROGERSON, John. Canine fears and phobias; a regime for treatment without recourse to drugs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 52, n. 3, p. 291-297, 1997.

ROONEY, J.; GAINES, A.; BRADSHAW, W. S.; Behavioral and glucocorticoid responses of dogs (*Canis familiaris*) to kenneling: Investigation mitigation of stress by prior habituation. **Physiology and Behavior**. V. 92, p. 847-854, 2007.

ROSEN, J B.; SCHULKIN, J. From normal fear to pathological anxiety. **Psychological Review**, v. 105, n. 2, p. 325, 1998.

SANDBERG, E. H.; VON WALTER, L. W.; HÖGLUND, K.; SVARTBERG, K.; SWENSON, L.; FORKMAN, B. Physiological Reactions to Fear Provocation in Dogs. **Journal of Endocrinology**. V.180, p. 439-448, 2004.

SAPOLSKY, R. M. **Stress, the aging brain, and the mechanisms of neuron death**. The MIT Press, 1992.

SELYE, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. **Nature**. V.138, p.32, 1936.

SHEPPARD, G.; MILLS, D. S. Evaluation of dog-appeasing pheromone as a potential treatment for dogs fearful of fireworks. **Veterinary Record**. V. 152, p.432-436, 2003.

SHERMAN, B. L.; MILLS, D. S. Canine anxieties and phobias: an update on separation anxiety and noise aversions. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 38, n. 5, p. 1081-1106, 2008.

SHULL-SELCER, E. A.; STAGG, W. Advances in the understanding and treatment of noise phobias. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 21, n. 2, p. 353-367, 1991.

SNOWDON, C. T. O significado da pesquisa em comportamento animal. **Estudos de Psicologia (Natal)**, v. 4, n. 2, p. 365-373, 1999.

SONG, J.; OGAWA, M.; TAN, A.; CHEN, P.; LIN, S. Heart Rate Variability and Autonomic Nerve Activities in Ambulatory Dogs. **28th EMBS Annual International Conference**, p. 1780-1783, 2006.

SPANGENBERG, E. M. F.; BJÖRKLUND, L.; DAHLBORN, K. Outdoor housing of laboratory dogs: Effects on activity, behaviour and physiology. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 98, n. 3, p. 260-276, 2006.

STAUSS, H. M. Heart rate variability. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. V.285, p.927-931, 2003.

STAUSS, H. M. Physiologic mechanisms of heart rate variability. **Revista Brasileira de Hipertensão**. V. 14, n. 1, p. 8-15, 2007.

SULTAN, Sonia E. Commentary: the promise of ecological developmental biology. **Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution**, v. 296, n. 1, p. 1-7, 2003.

SVARTBERG, K.; FORKMAN, B.; Personality Traits in the Domestic Dog (*Canis familiaris*). **Applied Animal Behaviour Science**, v.79, p. 133–155, 2002.

ULRICH-LAI, Y. M.; HERMAN, L. P. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. **Nature Reviews Neuroscience**, v.10, p.397-409, 2009.

VOITH, V. L., & BORCHELT, P. L. Fears and phobias in companion animals. **The Compendium on Continuing Education**, v.7, 209–218. 1985.

VON BORELL, E.; LANGBEIN, J.; DESPRÉS, G.; HANSEN, S.; LETERRIER, C.; MARCHANT-FORDE, J.; MARCHANT-FORDE, R.; MINERO, M. F.; MOHR, E.; PRUNIER, A.; VALANCE, D.; VEISSIER, I. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals .A review. **Physiology & Behavior**, v. 92, p 293–316, 2007.

WESTMAN, J. C.; WALTERS, J. R. Noise and Stress: a Comprehensive Approach. **Environmental Health Perspectives**, v. 41, p.291-309, 1981.

WILLNER, P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. **Neuropsychobiology**, v.52, p.90-110, 2005.

YAO, T.; ANDERSON, S.; THOREN, P. Long Lasting Cardiovascular Depressor Response Following Sciatic Stimulation in Spontaneously Hypertensive Rats. Evidence for the Involvement of Central Endorphin and Serotonin Systems. **Brain Research**, v. 244(2) p. 295– 303, 1982.

8 ANEXOS

ANEXO 1: Ficha geral de cadastro



IB – DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS PPGCF- PROJETO DE MESTRADO

Identificação animal

- 1) Nome:
- 2) Espécie:
- 3) Raça:
- 4) Pelagem:
- 5) Sexo: (M) (F) Castrado? () SIM () NÃO
- 6) Data da castração:
- 7) Motivo para castração:
- 8) Idade:
- 9) Idade de Obtenção:
- 10) Origem:

Identificação do proprietário:

- 1) Nome:
- 2) Endereço:
- 3) Bairro:
- 4) Cidade:
- 5) CEP:
- 6) Estado:
- 7) Telefone:

Dados familiares:

- 1) Estado civil:
- 2) Crianças: () SIM () NÃO
- 3) Profissão:
- 4) Escolaridade: () 1º GRAU () 2º GRAU () SUPERIOR

Manejo:

- 1) Onde dorme:
 - 2) Acesso à casa:
 - 3) Acesso à rua:
 - 4) Ambiente:
 - 5) Banho: (freq., local, produtos, etc)
 - 6) Escovação dos pelos:
 - 7) Dieta:
- Tipo: () Caseira () comercial
Freqüência:

Quantidade:

8)Suplementação: () SIM () NÃO

9) Outros animais:

10) Seu cão tem medo de sons de trovão e/ou fogos de artifício? Como ele se comporta no momento do som?

Se sim, quando esse comportamento teve início? (idade)

Você se lembra de algo, situação, ou coisa que possa ter dado início a esse comportamento?

Ele tem mais medo um do que do outro?

Assinale a seguir as características comportamentais que ocorrem de maneira frequente e de forma exagerada, trazendo transtorno, mas que não estão relacionadas ao momento do som de trovão e fogos de artifício:

1 – Excreção	4 – Fugir	7 – Agitação	10 – Pica	13 – Brigar
2 – Pular	5 – Timidez	8 – Morder	11 – Cavar	14 – Uivar
3 – Agressão	6 – Roer	9 – Desobedecer	12 – Latir	15 – Coprofagia

Outros? _____

Com que frequência ele ocorre? () Frequentemente (diário) () Ocasional
Desde quando? _____

Você acha que o aparecimento do problema comportamental foi motivado por algum fato (sons, pessoas estranhas)? () SIM () Não Qual? _____

Houve mudança na rotina da sua casa no ultimo ano?

() Sim () Não

Se sim, qual?

- () Morte de pessoa da família
- () Morte de animal da família
- () Divórcio
- () Casamento
- () Nascimento de bebê
- () Animais adicionados
- () Mudança de casa
- () Outros

Você acha que essa mudança interferiu de alguma forma na reação comportamental de seu cão a eventos estressantes como sons de trovão e fogos de artifício? Se sim de que forma?

Porque você escolheu este cão da ninhada? _____

Porque você escolheu esta raça? _____

Você já criou animais antes?

Sim Não Qual(is)?

Antecedentes clínicos:

Algum comportamento mudou após a castração? _____

Se o animal não é castrado, você planeja que ele procrie? Sim Não

Seu cão já cruzou? Sim Não

Se já castrado e fêmea, quantos cios ocorreram antes da gestação? _____

Qual a idade do 1º cio? _____

Que idade tinha o seu animal quando você o adquiriu? _____

O seu cão teve outros donos? Sim Não

Quantos? 1 2 3 4 Desconhece

Porque ele foi doado? _____

Quanto tempo você tem este animal? _____

Onde você adquiriu este animal?

Encontrado na rua

Criador/ Canil

Abrigo de animais

Cria da casa

Pet-Shop

Amigo

Outro Qual? _____

Porque você adquiriu este animal

Data da última visita ao veterinário: _____ Motivo: _____

2) Vacinado? SIM Não Qual(is) vacinas? _____

Vermifugado? SIM Não

Pulgas? SIM Não Carrapatos? SIM NÃO

Faz uso de medicamento(s)? SIM NÃO Qual? _____ Desde? _____

Já fez alguma cirurgia? SIM NÃO Qual(is)? _____

Possui outros animais? SIM NÃO Qual(is)? _____

Já tentou tratar o problema comportamental? SIM Não

Você permite que seu cão:

Corra livre sem guia na rua

Corra livre no canil/quintal/casa

Andar com coleira

Andar sem coleira com sua supervisão

Só dentro de casa

Qual a porcentagem do dia seu animal permanece dentro de casa? _____

Qual a porcentagem do dia seu animal permanece fora de casa? _____

Qual tipo de moradia você vive?

- Apartamento
- Casa na cidade/Condomínio
- Casa com quintal pequeno
- Casa com quintal grande
- Sítio/Fazenda

Onde seu animal dorme (Cheque todas as opções, nós sabemos que os animais movem-se a noite)

- Em cima da sua cama
- No canil
- Na cama dele no seu quarto
- Em outro cômodo
- No quintal

Descreva, com detalhes, como você prepara para sair de casa quando o animal vai ficar sozinho. Você ignora seu animal, você busca por ele e se despede, você demonstra um afeto exagerado por ele?

Quantas vezes seu cão caminha ou sai de casa por dia?

Problema atual:

- 1) Queixa Principal:
- 2) Histórico:

ANEXO 2: Ficha Neurológica

Proprietário:.....Nome:

Idade:

Telefone:..... Raça:..... (M) (F) (C)

Data/...../.....

QUEIXA Neurológica:

*Qual é o problema? * Quando começou? * Como evoluiu?

AVALIAÇÃO DA CABEÇA

Personalidade e atividade:.....

Histórias de convulsões? Sim Não

Endocrinopatias? Sim Não Qual(is)?.....

Postura da cabeça:.....

Coordenação da cabeça:.....

NERVOS CRANIANOS

Olfativo (I).....	Temporal e Masseter (V).....
Ameaça (II e VII)	Vestibular especial (VIII).....
Reflexo Pupilar (II e III)	Audição (VIII).....
Tamanho da pupila (II, PS, Simp).....	Deglutição (IX, X).....
Simetria da pupila (PS, Simp).....	Regurgitação (X).....
Estrabismo (III, IV, VI, VIII).....	Laringe (X).....
Nistagmo Vestibular (III, IV, VI, VIII).....	Trapézio (XI).....
Nistagmo espontâneo (VIII).....	Língua (XII).....
Reflexo do ouvido, lábio, olho (V, VII).....	Sinais Vitais.....

Avaliação do modo de andar? Caminhada Trote Rotação

ALIAÇÃO DOS MEMBROS TORÁCICOS	AVALIAÇÃO DOS MEMBROS PÉLVICOS
Carrindo de mão:.....	Carrinho de mão.....
Pular num só pé: E.....D.....	Pular num só pé: E.....D.....
Posicionamento: E.....D.....	Posicionamento: E.....D.....
Propriocepção: E..... D.....	Propriocepção: E..... D.....
Resistência Extensora: E..... D.....	Resistência Extensora: E..... D.....
Reflexo do bíceps: E..... D.....	Reflexo do patelar: E..... D.....
Reflexo do tríceps: E..... D.....	Reflexo do tibial craniano: E..... D.....
Extensor radial do carpo: E..... D.....	Reflexo gastrocnêmio: E..... D.....
Reflexo Flexor: E..... D.....	Reflexo Flexor: E..... D.....
Extensão cruzada: E..... D.....	Extensão cruzada: E..... D.....
Dor profunda: E..... D.....	Dor profunda: E..... D.....
Sinal de Babinski: E..... D.....	Sinal de Babinski: E..... D.....
Sensação superficial.....	Reflexo anal.....
Dor no Pescoço.....	Resposta do rabo.....
Atrofia muscular.....	Panículo.....
	Nível sensitivo.....
	Atrofia muscular.....

ANEXO 3: Ficha de avaliação de Fobia

UFRRJ- IB – DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

Animal:

Responsável:

Data:

ESCALA DE AVALIAÇÃO DE FOBIA A SOM DE TROVÃO E FOGOS DE ARTIFÍCIO

ATITUDE DESTRUTIVA

0	1	2	3	4	5
Pequenos danos(destruir objetos pequenos)			Grandes danos (destruir porta, parede, móveis..)		

ELIMINAÇÃO (urina, fezes)

0	1	2	3	4	5
Pouco			Muito		

VOCALIZAÇÃO: uivo latido lamento

0	1	2	3	4	5
Cerca de 2 min	5-15 min	15-30min	30min – 1 h	Mais de 1 hora	

SALIVAÇÃO

0	1	2	3	4	5
Úmido ao redor da boca			Patas e pêlo molhado		

ESCONDER

0	1	2	3	4	5
Poucas vezes			Todo o tempo		

INQUIETAÇÃO

0	1	2	3	4	5
.....Poucas vezes			Todo o tempo		

ARFAR

0	1	2	3	4	5
---	---	---	---	---	---

PROCURA PELO DONO

0 1 2 3 4 5

AUTO DESTRUIÇÃO

0 1 2 3 4 5

Lamedura, mordidas Ferimentos, dente e ossos quebrados

TREMER

0 1 2 3 4 5

ANEXO 4: Folder de divulgação



SEU CÃO TEM MEDO EXAGERADO DE TROVÃO E FOGOS?

APRESENTA REAÇÕES COMO:

- TREMER
- SE ESCONDER
- VOCALIZAR
- ATITUDE DESTRUTIVA
- SALIVAR

Aqui na Universidade Rural estamos desenvolvendo uma pesquisa sobre o medo exagerado ao som de trovão e fogos em cães.
Para isso, precisamos de voluntários!!!

Traga seu cão para participar deste estudo!

Poderão participar cães de:

- Todas as raças
- Ambos os sexos
- Idade entre 1 a 6 anos
- Peso entre 10 a 30 kg
- Saudáveis (livres de outras doenças, e/ou do uso de medicamentos)

Responsáveis:

Orientadora:
Dra. Magda Alves de Medeiros
Prof. Associado II da UFRRJ
CRMV-RJ 4996

Mestranda:
Carla C. Franzini de Souza
PPGCF UFRRJ
Médica Veterinária
CRMV-RJ 11954

Entre em contato !!!
email:
carlacarolvet@gmail.com
Tel: 81846997 / 75159244



ANEXO 5: Termo de Consentimento



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA E RESPONSÁVEL:

A- DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE:

- 11) Nome do paciente: _____
- 12) Raça: _____ Pelagem: _____
- 13) Sexo: (M) (F) Castrado? () SIM () NÃO
- 14) Data de Nascimento: ____/____/____.

B- DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO RESPONSÁVEL LEGAL:

- 8) Nome: _____
- 9) Identidade: _____ Sexo: (M) (F)
- 10) Endereço: _____
Bairro: _____ Cidade: _____
CEP: _____ Telefone: _____

II – DADOS DA PESQUISA:

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

A- TÍTULO DO PROTOCOLO DA PESQUISA:

“RESPOSTAS AUTONÔMICAS, ENDÓCRINAS E COMPORTAMENTAIS AO ESTRESSE SONORO AGUDO EM CÃES DE COMPANHIA COM HISTÓRICO DE FOBIA A SONS DE TROVÃO E/OU FOGOS DE ARTIFÍCIO”.

B- PESQUISADORES:

PESQUISADOR: CARLA CAROLINE FRANZINI DE SOUZA – MESTRANDA
PESQUISADORA: MAGDA ALVES MEDEIROS – ORIENTADORA

C- GRAU DE RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

A - Acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas.

B - Liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo.

C - Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS:

Mestranda, Med. Vet. Carla C. F. Souza

Prof^a Dr^a. Magda Alves Medeiros

Cel: (21) 8184-6997

Cel: (21) 8222-6869

E-mail: carlacarolvet@gmail.com

E-mail: magda.medeiros@gmail.com

VI - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que foi explicado, consinto que meu animal participe do presente Protocolo de Pesquisa.

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 20014.

Assinatura do responsável legal

Assinatura do pesquisador

ANEXO 6: Ficha de Protocolo Experimental

Data:	Pesquisadores:								
Experimento:									
Prop.:	Nome:	Idade:	Peso:	Sexo:					
Temperamento:									
Exame clínico									
Temperatura:				Mucosas:			Ausculta:		
Otológico:									
Protocolo experimental:									
Basal casa:	Transporte	Chegada	Basal sala	Coleta 2	SOM	Coleta 3	Coleta 4	Coleta 5	Coleta6
Escore comportamental:									
	COMPORTAMENTO	NOTA							
1	arfar								
2	tremer								
3	postura de submissão								
4	se esconder								
5	procurar por pessoas								
6	vigilância								
7	inquietação								
8	vocalização								
9	atitude destrutiva								
10	salivação								
11	eliminação								
12	disparada								
13	fugir da sala								
14	sobressalto								
Escala de quatro notas: 0 = não observado, 1 = observado algumas vezes, 2 = observado frequentemente e 3 = observado durante todo o tempo de estímulo									
Observações:									