UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA, ANIMALI, ALIMENTI, RISORSE NATURALI E AMBIENTE

Corso di laurea in Scienze e Tecnologie Animali

(Classe L-38)

RISPOSTE FISIOLOGICHE E COMPORTAMENTALI DEL CANE IN SITUAZIONI DI PAURA

PHYSIOLOGICAL AND BEHAVIORAL RESPONSES OF THE DOG IN SITUATIONS OF FEAR

Relatrice: Prof.ssa Elisa Giaretta

Correlatrice: Prof.ssa Simona Normando

Laureanda: Sofia Depretto

Matricola n. 122356

Anno Accademico 2021/2022

INDICE

RIASSUNTO ...……...……..……pag.5

ABSTRACT ……...……...…pag.7

ACRONIMI UTILIZZATI …….……..……pag.9

INTRODUZIONE ……...……...…pag.11

PRIMA PARTE: **"Risposte fisiologiche allo stress nel cane"** …….…...…pag.15

Capitolo 1: Il sistema nervoso …….……pag.15

1.1 *I neuroni e le cellule gliali* ……..pag.15

1.2 *Il Sistema Nervoso Centrale* ……..…….pag.17

1.2.1 Il sistema limbico ……...……pag.17

1.3 *Il Sistema Nervoso Periferico* …….…….pag.18

1.3.1 Il Sistema Nervoso Periferico Autonomo e i riflessi ……...……pag.19

1.3.2 Lo stress e la paura attivano il S.N.P. Autonomo simpatico ……....pag.21

Capitolo 2: Il sistema endocrino ……..……pag.22

2.1 *Gli ormoni* ……..pag.22

2.1.1 La comunicazione ormonale ……...pag.23

2.1.2 Il controllo a feedback negativo ……..pag.23

Capitolo 3: L'asse ipotalamo-ipofisi-surrene …….……pag.25

3.1 *L'ipotalam*o ……pag.25

3.1.1 I neurormoni ipotalamici ……pag.26

3.1.2 L'ormone rilasciante corticotropina ……...…pag.26

3.2 *L'ipofisi* ……..pag.27

3.2.1 Ormoni ipofisari ……pag.27

3.2.2 Gli ormoni adenoipofisari ……...…pag.27

3.2.3 La corticotropina ……pag.28

3.3 *La comunicazione ipotalamo-ipofisi* ……..pag.29

3.4 *Le ghiandole surrenali* …….……..pag.30

3.4.1 La corticale del surrene …….……..pag.31

3.4.2 Il cortisolo ……..pag.31

3.4.3 La midollare del surrene …….…pag.34

3.4.4 Le catecolamine ……..pag.35

3.5 *Una possibile disfunzione dell'asse HPA* ……..……pag.36

Capitolo 4: Lo stress nel cane ……..……pag.37

4.1 *Tipologie di stress* ……...……pag.38

4.1.1 Lo stress acuto ……...pag.38

4.1.2 Lo stress cronico ……pag.39

4.2 *Studi scientifici* ……..pag.40

4.2.1 Lo stress causa risposta immunitaria (infiammazione) ……..pag.40

4.2.2 Reazioni fisiologiche alla paura nei cani ……pag.41

4.2.3 Il cortisolo salivare come possibile marcatore per lo stress acuto ……..pag.42

4.2.4 Risposte fisiologiche nel cane durante una visita veterinaria ……...…..pag.44

SECONDA PARTE: **"Risposte comportamentali nel cane allo stress e alla paura"** ……..……pag.47

Capitolo 5: Comportamenti causati da stress e paura nel cane …….……pag.47

5.1 *Correlati comportamentali di distress nel cane* …….……..…pag.48

5.1.1 Comportamenti di stress nel cane durante la visita veterinaria ……...……pag.49

5.1.2 Valutazioni qualitative del comportamento nel cane …….…...…..…pag.50

5.2 *Le definizioni per descrivere il comportamento canino* ……..……..pag.51

5.3 *Conclusioni relative ai video ricavati per questo studio di tesi* ……pag.53

5.3.1 Breve analisi dei singoli video …….……pag.53

CONCLUSIONI …...……. ……..…..pag.57

BIBLIOGRAFIA ……....pag.59

SITOGRAFIA ……pag.61

Ringraziamenti ……..……..pag.63

RIASSUNTO

Quando un animale è sottoposto ad una condizione stressogena (più o meno prolungata), a livello fisiologico vengono rilasciate specifiche sostanze chimiche che mettono l'intero organismo in allerta attivando il sistema "fight-or-flight" (cioè "combatti-o-fuggi"). L'ipotalamo infatti, in risposta allo stress, attiva due meccanismi: e il sistema nervoso simpatico (SNS)-midollare del surrene e l'asse ipotalamo-ipofisi-corticale del surrene (asse HPA).

L'ipotalamo, *in primis,* stimola l'attivazione del sistema nervoso simpatico, che è una divisione del Sistema Nervoso Periferico Autonomo. Il sistema nervoso autonomo comunica in maniera singolare con la midollare delle ghiandole surrenali: esse sono considerate infatti dei gangli modificati del sistema simpatico. I neuroni prepangliari simpatici rilasciano il neurotrasmettitore *acetilcolina* direttamente nella *midollare del surrene*, dove sono presenti i corpi cellulari dei neuroni postgangliari simpatici, i quali, su stimolo dell'acetilcolina, attivano le cellule endocrine della midollare per secernere *epinefrina* e *norepinefrina*. Le catecolamine agiscono sulle cellule target legandosi ai recettori posti sulla membrana cellulare, chiamati *recettori adrenergici*.

L'ipotalamo inoltre, in risposta allo stress, libera l'ormone rilasciante corticotropina (CRH), che arriva, attraverso il sistema portale ipotalamo-ipofisario, all'*adenoipofisi*. Qui avviene l'attivazione dell'adenilatociclasi, la quale permette alle cellule endocrine adenoipofisarie di sintetizzare l'ormone *corticotropina (ACTH)*. Quest'ormone viene liberato nel circolo sanguigno, per poi essere captato dai recettori di membrana delle cellule endocrine della parte fascicolata della *corticale del surrene* che secerne glucocorticoidi, Tra i glucocorticoidi il più importante nella risposta allo stress è il cortisolo. Esso viene rilasciato nel circolo ematico e va ad influenzare le risposte di altri distretti del corpo. Causa un aumento della pressione arteriosa, innalza i livelli ematici di acidi grassi e amminoacidi, impedisce alle cellule di utilizzare il glucosio libero del sangue, portando quindi ad un innalzamento della glicemia e il suo rilascio prolungato può interferire con il corretto funzionamento del sistema immunitario, causando immunosoppressione.

A livello comportamentale la risposta di "paura" in determinate situazioni è soggettiva di intensità variabile, in base a molti fattori individuali dell'animale in questione. In questo studio sono stati esaminati dei video svolti su dei cani mentre entravano in ambulatorio veterinario accompagnati dai loro padroni. Si è notato che in alcuni soggetti la paura era uno stato iniziale, seguita poi da un progressivo rilassamento; per cui si notava la rigidità muscolare iniziale del corpo dell'animale, il movimento degli

occhi e l'atteggiamento a indicare disagio. In altri cani, invece, questi comportamenti erano molto meno accentuati.

ABSTRACT

When an animal is subjected to a stressful condition (more or less prolonged), specific chemical substances are released on a physiological level that put the whole organism on alert by activating the "fight-or-flight" system (ie "fight-or-flight").In fact, the hypothalamus, in response to stress *stimula*, activates two mechanisms: the sympathetic nervous system (SNS) and adrenal medulla and the hypothalamic-pituitary- adrenal cortex axis (HPA axis).

The hypothalamus, *in primis,* activates the SNS, which is a division of the autonomic peripheral nervous system. The autonomic nervous system communicates in a unique way with the medulla of the adrenal glands: they are in fact considered modified ganglia of the sympathetic system. Sympathetic preganglionic neurons release the neurotransmitter *acetylcholine* directly into the *adrenal medulla*, where the cell bodies of sympathetic postganglionic neurons are present, which, upon stimulation of acetylcholine, activate the endocrine cells of the medulla to secrete *epinephrine* and *norepinephrine*. Catecholamines act on target cells by binding to receptors on the cell membrane, called *adrenergic receptors*.

In addition, the hypothalamus in response to stress conditions, releases *the corticotropin releasing hormone (CRH)*, which reaches the adenohypophysis through the hypothalamus-pituitary portal system. Here the activation of adenylate-cyclase takes place, which allows the adenohypophyseal endocrine cells to synthesize the *adrenocorticotropic hormone* (*ACTH)*. This hormone is released into the bloodstream, and is then captured by the membrane receptors of the endocrine cells of the fasciculate part of adrenal cortex which secretes glucocorticoids. The most important glucocorticoid, released during the stress response is the *cholesterol.* Cortisol is released into the bloodstream and affects the responses of other parts of the body. It causes an increase in blood pressure, raises blood levels of fatty acids and amino acids, prevents cells from using the free glucose in the blood, thus leading to a rise in blood sugar and if released for a long time interferes with the proper functioning of the immune system, causing immunosuppression.

At the behavioral level, the "fear" response in certain situations is subjective of varying intensity, based on many individual factors of the animal in question. In this study, videos of dogs were examined as they entered the vet clinic accompanied by their owners. It was noted that in some subjects the fear was an initial state, followed by a progressive relaxation; for which we noticed the initial muscular rigidity

of the animal's body, the movement of the eyes and the attitude to indicate discomfort. In other dogs, however, these behaviors were much less pronounced.

ACRONIMI UTILIZZATI

Capitolo 1: Il sistema nervoso

- **S.N.C. :** Sistema Nervoso Centrale
- **S.N.P. :** Sistema Nervoso Periferico
- **ACh :** AcetylCholine - acetilcolina -

Capitolo 3: L'asse ipotalamo-ipofisi-surrene

- **HPA :** Hypothalamus-Pituitary-Adrenal gland - asse ipotalamo-ipofisi-surrene -

Paragrafo 3.1: L'ipotalamo

- **PIH :** Prolactin Inhibiting Hormone - ormone inibente la prolattina -
- **GHIH :** Growth-Hormone Inhibiting Hormone - ormone inibente l'ormone della crescita -
- **ACTHRH :** Adrenocorticotropic-Hormone Releasing Hormone - ormone rilasciante l'ACTH -
- **TRH :** Thyroid-stimulating-hormone Release Hormone - ormone rilasciante tireotropina -
- **GHRH :** Growth-Hormone Release Hormone - ormone rilasciante l'ormone della crescita -
- **GnRH :** Gonadotropins Release Hormone - ormone rilasciante gonadotropine (FSH e LH) -
- **PRLRH :** Prolactin Release Hormone - ormone rilascinate prolattina -
- **CRH :** Corticotropin Release Hormone - ormone rilasciante corticotropina -

Paragrafo 3.2: L'ipofisi

- **ADH :** Antidiuretic Hormone - ormone antidiuretico -
- **MSH :** Melanocyte Stimulating Hormone - ormone stimolante i melanociti -
- **ACTH :** Adrenocorticotropic Hormone - ormone adrenocorticotropo -
- **TSH :** Thyroid Stimulating Hormone - ormone stimolante la tiroide - *TIREOTROPINA* -
- **FSH :** Follicolostimulant Hormone - ormone follicolostimolante -
- **LH :** Luteinizing Hormone - ormone luteinizzante -
- **GH :** Growth Hormone - ormone della crescita -
- **STH :** Somatostatin Hormone - somatotropina -
- **PRL :** Prolactin - prolattina -

Paragrafo 3.4: Le ghiandole surrenali

- **LDL :** Low Density Lipoprotein - lipoproteine a bassa densità -
- **PKA :** Protein Kinase A - proteinchinasi A -
- **CBG :** Cortisol Binding Globulin - globulina legante il cortisolo - *TRANSCORTINA* -

INTRODUZIONE

Ho sempre avuto un interesse particolare per tutto ciò che riguarda le motivazioni che portano un animale a comportarsi in una certa maniera, trovandosi in una particolare situazione. Perché reagisce così? Ha un background di esperienze vissute che l'hanno portato a "decidere" che quella è la risposta giusta quando si verificano determinate circostanze? Oppure è un meccanismo istintivo specie-specifico che si è evoluto nel tempo?

Per questo motivo ho deciso di incentrare la mia tesi di laurea su qualcosa di inerente a questa mia curiosità. Complice anche la passione per la *fisiologia*, che permette di capire i meccanismi, a volte complessi, che stanno dietro a tutto ciò che un animale fa. Valutando cosa accade, si può sapere il come accade (fisiologicamente) e il perché accade in quel modo (visione comportamentale). Esiste una correlazione molto forte, quanto impercettibile e trascurata, tra questi due mondi: il mondo interno all'organismo, fatto di stimoli che attivano precisi meccanismi, i quali portano a risposte biologiche per ripristinare sempre un certo equilibrio iniziale; e il mondo esterno, percepito in maniera soggettiva dall'animale, che incentiva la manifestazione di comportamenti che possono essere a volte istintivi, o insoliti, o specie-specifici.

Il mio studio, seppur modesto, volge a definire le risposte fisiologiche e comportamentali messe in atto da un animale per rispondere a situazioni stressanti.

Come animale, in particolare, viene preso in considerazione **il cane** (il quale presenta meccanismi fisiologici molto simili a molti altri mammiferi, compreso l'uomo). La situazione stressante in oggetto per lo studio è la visita ambulatoriale nella sua interezza, dall'accesso in clinica alla manipolazione da parte del medico veterinario, passando anche per l'influenza che i proprietari hanno inevitabilmente sui loro animali.

A tal proposito, ho assistito come tirocinante a varie visite ambulatoriali in una clinica veterinaria di mia conoscenza.

Il tirocinio pratico-formativo è stato svolto presso la Clinica veterinaria Bertollo, che si occupa di piccoli animali, con lo scopo di acquisire dimestichezza in un contesto extra-universitario e di interesse personale. Il plesso ambulatoriale è ubicato a Camisano vicentino, e ad oggi il suo organico comprende dieci medici veterinari, un'infermiera/assistente veterinaria e una segretaria. Il personale presente è maggiormente specializzato in alcune branche della medicina veterinaria, quali chirurgia, diabetologia, medicina d'urgenza, medicina interna, neonatologia, oftalmologia, oncologia, ortopedia e riproduzione.

In accordo con la prof.ssa E. Giaretta, la quale mi ha gentilmente seguita sia durante il tirocinio pre-lauream che nella stesura di questo elaborato, ho deciso di impiegare le 300 ore, previste dall'offerta formativa del corso di studi, in un ambulatorio in modo da procurarmi del materiale utile alla stesura della tesi. Durante la mia presenza in struttura, infatti, è stata posta l'attenzione sull'oggetto di studio: le diverse reazioni dei cani che entrano in ambulatorio e le risposte comportamentali evidenziate conseguentemente alla situazione di stress che alcuni di loro possono vivere. Ho effettuato dei video su pazienti particolarmente ansiosi e timorosi per captare i loro modi di esteriorizzare il fatto di sentirsi a disagio e sotto stress.

Per la scrittura della prima parte di questo elaborato (intitolata "Risposte fisiologiche allo stress nel cane") ho consultato un libro di testo universitario sulla fisiologia degli animali domestici per descrivere le risposte biologiche e i sistemi coinvolti nella reazione allo stress. Con alcuni articoli scientifici pubblicati in library internazionali, su consiglio della docente relatrice, ho potuto approfondire la percezione dello stress da parte dei cani.

Per quanto riguarda la seconda parte (intitolata "Risposte comportamentali allo stress del cane") ho svolto varie ricerche online su piattaforme scientifiche mettendo a confronto vari studi effettuati da ricercatori internazionali, veterinari, comportamentalisti ed etologi. Per concludere ho stilato una lista di tutti i possibili segnali di stress, ansia e paura che i cani mandano per comunicare tra loro e con i loro proprietari (comunicazione intra-specifica e comunicazione extra-specifica). Visionando gli otto filmati prodotti in clinica durante il periodo di tirocinio, ho potuto confrontare i comportamenti messi in atto dai pazienti oggetto dei video con i vari segni specifici considerati dai professionisti e studiosi del settore dell'etologia canina.

Nella prima parte viene descritto come un organismo, in condizione di stress, è in grado reagire: quali meccanismi si attivano a livello fisiologico, come vengono stimolati e quali organi sono coinvolti. Voglio ricordare ai lettori, però, un concetto che lo studio della fisiologia mi ha insegnato: qualsiasi meccanismo, attuato in una precisa situazione, coinvolge direttamente gli organi preposti al completamento della risposta biologica, ma ha sempre effetti sull'organismo intero, implicando modificazioni (più o meno intense, siano esse positive o negative) a tutti gli altri organi. Si è studiato che a livello fisiologico, uno stressor attiva principalmente due meccanismi: il cosiddetto asse ipotalamo-ipofisi-surrene, controllato appunto dall'ipotalamo e che fa liberare elevati quantitativi di cortisolo a livello ematico, e la reazione di paura-attacco-fuga, innescata dal sistema nervoso simpatico che provoca il rilascio di adrenalina in circolo da parte della midollare del surrene. Esiste, infatti, un legame molto stretto tra il sistema nervoso e il sistema endocrino evidenziato ed utilizzato soprattutto per rispondere a stimoli derivati da ansia e paura, quali lo stress.

Un cane può percepire diversi avvenimenti come fattori stressanti. Lo stress viene vissuto in diversi modi e i cani hanno differenti pattern comportamentali per dimostrarlo. Molto dipende anche dal loro carattere e personalità, dall'ambiente in cui sono soliti vivere e dalla qualità dell'interazione che hanno quotidianamente con i loro proprietari.

Nella seconda parte della tesi vengono appunto descritti quali sono i principali segnali che evidenziano uno stato di disagio nel cane (ansimare, tremare, leccarsi le labbra, etc.). I ricercatori hanno, inoltre, stilato una lista di vocaboli, con relative descrizioni, per identificare in maniera univoca determinati atteggiamenti/comportamenti che possono farci capire lo stato emotivo del cane e il suo livello di stress in quel momento.

Esaminando gli otto video prodotti in ambulatorio ho potuto confrontare ciò che comunicavano i pazienti oggetto dei video con quello che è stato rilevato dagli studiosi etologi e comportamentalsiti. I maggiori comportamenti rilevati nei video analizzati sono stati di cani a disagio, più o meno nervosi ed esitanti, ma alcuni si sono mostrati anche rilassati, fiduciosi ed attenti.

PRIMA PARTE

Risposte fisiologiche allo stress nel cane

CAPITOLO 1

IL SISTEMA NERVOSO

Il Sistema Nervoso si divide in Sistema Nervoso Centrale e Sistema Nervoso Periferico. Questo sistema è responsabile della ricezione di informazioni dall'ambiente esterno e della regolazione delle risposte interne all'organismo per il mantenimento dell'omeostasi o per ripristinare l'equilibrio originale in caso l'organismo subisca degli insulti. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

1.1 *I neuroni e le cellule gliali*

Le unità funzionali e strutturali del sistema nervoso sono i *neuroni*. Essi sono costituiti da un corpo centrale a cui possono afferire uno o più *dendriti* e da cui si prolunga sempre un solo *assone*.

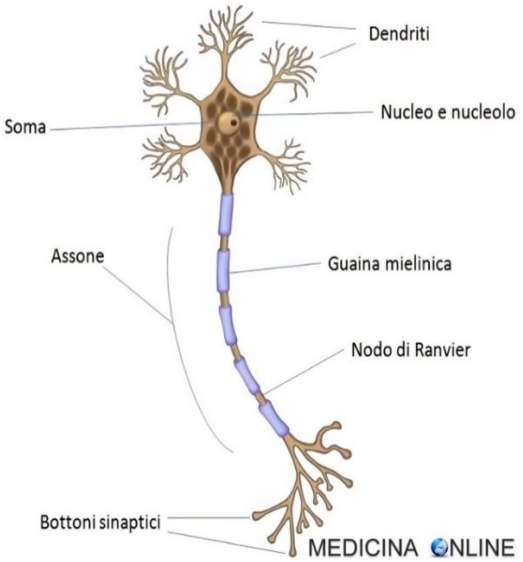

Figura 1 *Il neurone* - immagine tratta dal sito web "MedicinaOnLine.co" –

I neuroni possono essere classificati sia dal punto di vista funzionale che da quello strutturale. In base alla loro funzione si hanno tre tipologie diverse:

- SENSITIVI (detti anche *afferenti*), i quali inviano gli stimoli al S.N.C. a partire dalle aree periferiche dell'organismo;
- MOTORI (detti anche *efferenti*), i quali inviano segnali dal S.N.C. alla periferia del corpo;
- INTERNEURONI, presenti nel S.N.C., i quali elaborano le informazioni.

Anche dal punto di vista strutturale si dividono i neuroni in tre categorie:

- ✓ MULTIPOLARI: costituiti da più dendriti ramificati distalmente e un assone;
- ✓ BIPOLARI: costituiti da un dendrite e un assone;
- ✓ PSEUDOUNIPOLARI: costituiti soltanto da un assone (senza dendriti).

Oltre ai neuroni, è presente un'altra tipologia di cellule, cioè i *neuroglia* (o cellule gliali). Queste cellule sono fondamentali in quanto hanno una funzione di supporto trofico. Infatti forniscono nutrimento trasportando i metaboliti dal circolo sanguigno ai neuroni.

I neuroglia si dividono in sei tipi di cellule diversificate:

- *cellule satellite*: le quali sostengono i corpi cellulari neuronali del S.N.P.;
- *cellule di Schwann*: le quali secernono fattori neurotrofici e costituiscono le guaine mieliniche degli assoni;
- *oligodendrociti*: anch'esse vanno a costituire le guaine mieliniche degli assoni;
- *astrociti*: contribuiscono a formare la barriera emato-encefalica, danno sostegno ai corpi cellulari neuronali del S.N.C., e secernono fattori neurotrofici;
- *microglia*: le quali derivano dai macrofagi, in quanto cellule immunitarie modificate;
- *cellule ependimali*: le quali rappresentano la fonte di cellule staminali nervose e costituiscono barriere tra vari compartimenti.

I primi due tipi di neuroglia sono presenti nel S.N.P., mentre gli altri si trovano nel S.N.C. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

1.2 *Il Sistema Nervoso Centrale*

Il Sistema Nervoso Centrale è costituito da *encefalo* e *midollo spinale*.

L'*encefalo* è preposto all'analisi e all'interpretazione delle informazioni ricevute e all'elaborazione di risposte. Esso, dunque, è responsabile della memoria, dell'apprendimento, della motivazione e della locomozione. L'encefalo è costituito da varie strutture:

_ il CERVELLO (o telencefalo), diviso in due emisferi cerebrali, uniti tra loro da un corpo calloso e avvolto dalla corteccia cerebrale;

_ il DIENCEFALO, formato da talamo e ***ipotalamo***: entrambi sono responsabili del mantenimento dell'omeostasi, il primo funge da trasmettitore delle informazioni, mentre il secondo controlla le ghiandole endocrine che secernono neurormoni;

_ il CERVELLETTO, il quale controlla e/o corregge i movimenti complessi;

_ il TRONCO DELL'ENCEFALO, da cui originano 12 paia di nervi cranici.

Il *midollo spinale*, situato nel canale vertebrale, è il prolungamento del tronco dell'encefalo e rappresenta il collegamento tra l'encefalo e il S.N.P. Esso è costituito dalle 30 alle 40 paia di nervi spinali. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

1.2.1 *Il sistema limbico*

Nel cervello, oltre a vari sistemi che controllano la propriocezione, il ciclo sonno-veglia, il controllo dei muscoli scheletrici, la memoria e l'apprendimento, si trova anche il ***sistema limbico***. Questo sistema è responsabile delle *emozioni*, delle *motivazioni*, dei *comportamenti sociali e sessuali* e dell'*istinto di sopravvivenza*. I nervi olfattivi sono connessi direttamente a questo sistema, perciò l'olfatto è un senso fondamentale nelle emozioni.

Strutturalmente è costituito da un anello di strutture prosencefaliche interconnesse tra loro che circondano il tronco encefalico e comprende:

- delle aree della corteccia cerebrale, cioè il *girus cinguli* dorsalmente e il *giro paraippocampale* (dove troviamo anche l'ippocampo) ventralmente;
- dei nuclei cerebrali, come l'amigdala;
- alcune parti dell'ipotalamo, cioè i corpi mammillari.

L'***ipotalamo*** *[vedi capitolo 3, paragrafo 3.1]*, oltre a far parte del sistema limbico, è anche il centro di coordinamento del S.N.P. Autonomo, quindi è responsabile del rapporto tra emozioni e comportamenti del cane e reazioni fisiologiche dell'organismo. Inoltre, essendo l'ipotalamo connesso con la corteccia cerebrale, le funzioni del sistema nervoso autonomo non sono indipendenti da pensieri ed emozioni dell'individuo. Però, la maggior parte degli archi riflessi autonomi *[vedi paragrafo 1.3.1, di questo capitolo]* non trasmettono le informazioni alla corteccia cerebrale, quindi il pensiero e le emozioni possono influenzare il sistema nervoso autonomo, ma solitamente l'animale non ne è consapevole. Si ritiene, perciò, difficile ottenere un controllo cosciente delle funzioni autonome. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

1.3 *Il Sistema Nervoso Periferico*

Il Sistema Nervoso Periferico è responsabile della comunicazione dal S.N.C. agli atri distretti del corpo. Esso è costituito da una serie di nervi pari suddivisi in nervi cranici e nervi spinali: i primi fuoriescono dall'encefalo, mentre i secondi fuoriescono dal midollo spinale.

Le informazioni sensoriali che arrivano al S.N.C. possono avviare dei *riflessi*, cioè risposte rapide e automatiche che coinvolgono soprattutto il midollo spinale e il tronco encefalico. I riflessi involontari partecipano alla regolazione della funzionalità delle ghiandole, del cuore e dei muscoli lisci dei vasi sanguigni e dei visceri. Le informazioni ricevute dal S.N.C. vengono anche inviate ai vari distretti dell'organismo in cui vengono analizzate e utilizzate come base per la percezione da parte del cane dell'ambiente circostante. Nell'encefalo, infatti, si generano anche l'istinto e le motivazioni (responsabili del comportamento del cane) e funzioni mentali superiori (pensiero ed **emozioni**).

Il S.N.P. è diviso in tre componenti:

- il sistema *sensoriale* (trasmette le informazioni al S.N.C.);
- il sistema *motorio somatico* (controlla i muscoli scheletrici, quindi i movimenti);
- il sistema *nervoso autonomo* (controlla le ghiandole, il cuore e la muscolatura liscia). (Sjaastad O.V. et al., 2013)

1.3.1 *Il Sistema Nervoso Periferico Autonomo e i riflessi*

Il sistema nervoso autonomo regola le funzioni viscerali che mantengono l'omeostasi tramite l'ipotalamo *[vedi capitolo3, paragrafo 3.1]* e regola involontariamente la muscolatura liscia, la muscolatura cardiaca e il sistema ghiandolare.

La regolazione nervosa avviene mediante riflessi autonomi. Gli *archi riflessi autonomi* sono formati da quattro componenti: neuroni sensitivi (o sensoriali), interneuroni del centro di integrazione, motoneuroni e cellule effettrici (possono essere cellule muscolari o ghiandolari). Nei riflessi non è quindi coinvolto il cervello. Molti neuroni sensitivi vengono inclusi sia in archi riflessi autonomi sia in archi riflessi somatici. Ad esempio, uno stimolo che provoca il riflesso di allontanamento (riflesso somatico), può portare anche a un aumento della frequenza cardiaca (riflesso autonomo).
Il S.N.P. somatico come via efferente si avvale di un motoneurone; mentre il S.N.P. autonomo come via efferente dispone di 2 neuroni (*pregangliare* e *postgangliare*). Questi due neuroni sono posti tra il S.N.C. e le cellule effettrici (muscoli/ghiandole). Il primo neurone, detto *pregangliare*, ha il corpo cellulare nel S.N.C. (nel tronco encefalico o nel midollo spinale), mentre la sinapsi con il secondo neurone, detto *postgangliare*, avviene nei gangli autonomi. I neuroni pregangliari sono mielinici e contraggono sinapsi con i gangli autonomi, liberando ***acetilcolina (ACh)***. I neuroni postgangliari sono amielinici e contraggono sinapsi con le cellule effettrici (dette anche cellule "bersaglio"), grazie al prolungamento dei loro assoni, liberando *acetilcolina* (se sono neuroni postgangliari del sistema parasimpatico) o *noradrenalina* (se sono neuroni postgangliari del sistema simpatico). I neuroni che comunicano tramite acetilcolina sono chiamati "neuroni colinergici", mentre quelli che comunicano tramite norepinefrina sono detti "neuroni adrenergici". (Sjaastad O.V. et al., 2013)

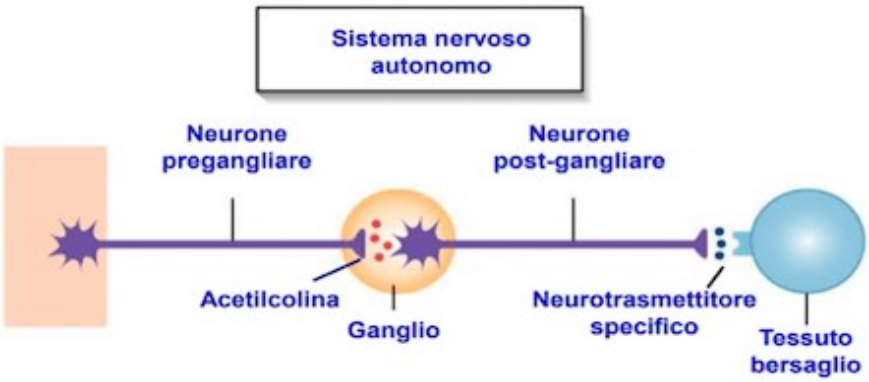

Figura 2 *Come comunica il S.N.P.Autonomo* - immagine tratta dal sito web "chimica-online.it" -

Dal punto di vista strutturale e funzionale il S.N.P. AUTONOMO si suddivide in tre parti:

- sistema nervoso ***simpatico***, il quale prepara l'animale ad affrontare situazioni stressanti e fisicamente impegnative;
- sistema nervoso *parasimpatico*, attivo quando l'individuo è a riposo o emotivamente tranquillo e rilassato;
- sistema nervoso *enterico*, il quale regola il sistema gastrointestinale ricevendo stimoli dal tratto digerente e avendo come organi bersaglio quelli costituenti il tubo digerente.

Il sistema nervoso enterico è costituito da un complesso insieme di neuroni posti internamente alle pareti del tratto digestivo e comprende sia neuroni sensitivi che motoneuroni. Esso è fondamentale per la regolazione della motilità gastrica e intestinale e dell'attività secretoria svolta dagli organi coinvolti nella digestione.

Il sistema nervoso parasimpatico è attivo quando il cane è in uno stato di confort psico-fisico, infatti, conserva o ristabilisce le riserve corporee. I gangli del sistema parasimpatico non sono interconnessi tra loro e gli effetti della stimolazione parasimpatica non sono potenziati da una collaborazione con il sistema endocrino (come avviene per il sistema simpatico). Perciò l'influenza parasimpatica sui singoli organi bersaglio è definita "selettiva". L'aumento della frequenza di impulsi nervosi nelle fibre del sistema parasimpatico porta a un rallentamento della frequenza cardiaca, una diminuzione della pressione sanguigna, una maggiore affluenza di chimo nello stomaco e nell'intestino, stimola la secrezione ghiandolare (quindi si ha maggior salivazione e lacrimazione).

Il ***sistema nervoso simpatico*** viene attivato in situazioni di stress per l'animale (stress fisico o/e psichico). Con l'attivazione di questo sistema nervoso si ha la mobilitazione delle riserve corporee per la lotta o la fuga: risposte istintive del cane a disagio. Ciò va a comportare un aumento della frequenza cardiaca e della pressione arteriosa, vasocostrizione a livello cutaneo per irrorare maggiormente alcuni distretti specifici (per esempio i muscoli) e l'inibizione dell'attività digestiva, quindi ridotta motilità e minor secrezione di succhi digestivi. I neuroni pregangliari del sistema nervoso simpatico hanno i corpi cellulari nelle corna laterali di tutti i segmenti toracici e nei segmenti lombari più craniali (4/6 segmenti lombari) del midollo spinale. Gli assoni ramificati dei neuroni pregangliari simpatici formano sinapsi con molto neuroni postgangliari, i quali possono trovarsi anche in gangli simpatici separati. I neuroni postgangliari di uno specifico ganglio simpatico possono sviluppare assoni ramificati che raggiungono diversi distretti corporei. Quindi gli impulsi nervosi in uscita dal sistema nervoso simpatico spesso influenzano più regioni dell'organismo contemporaneamente. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

1.3.2 *Lo stress e la paura attivano il S.N.P. Autonomo simpatico*

In condizioni stressanti, gli effetti provocati dal sistema nervoso simpatico sui diversi organi vengono collegati tra loro in modo da facilitare l'animale nella risposta a una crisi; questa è detta **reazione di paura-attacco-fuga**.

La paura inibisce il sistema nervoso parasimpatico e fa attivare quello simpatico. Per prepararsi all'attacco si ha il coinvolgimento di una parte del S.N.C., cioè il tronco dell'encefalo, che determina un aumento dell'attenzione e della concentrazione. Inoltre, grazie alla vasocostrizione cutanea e all'aumento della forza di contrazione del cuore, si ha un maggior afflusso sanguigno agli organi utili per la lotta e la fuga (per esempio i muscoli).

Contemporaneamente, si ha la creazione di energia prontamente utilizzabile per le cellule sollecitate tramite due vie: degradazione del glicogeno stoccato a livello epatico in glucosio, che andando in circolo aumenta la glicemia, e la lipomobilitazione, cioè la degradazione dei lipidi stoccati nel tessuto adiposo per l'ottenimento di energia, la quale comporta un innalzamento del livello ematico di acidi grassi. Questo avviene in risposta all'aumento di adrenalina nel sangue; essa stimola infatti l'accelerazione del metabolismo. L'adrenalina ha un effetto molto forte sulla glicogenolisi epatica portando a un'abbondante liberazione di glucosio in circolo. Inoltre ha un effetto importante anche sulla lipasi ormono-sensibile e quindi potenzia la degradazione dei trigliceridi. Le concentrazioni a livello ematico di acidi grassi possono aumentare anche di cinque-dieci volte, superando di molto la concentrazione plasmatica di glucosio. Perciò il catabolismo cellulare degli acidi grassi è direttamente proporzionale alla loro disponibilità plasmatica ed è particolarmente abbondante in molte situazioni ritenute stressanti dal cane. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

CAPITOLO 2

IL SISTEMA ENDOCRINO

Fino ad ora è stato descritto il sistema nervoso, il quale gestisce crisi a breve termine e comunica tramite neurotrasmettitori. Il sistema endocrino, invece, regola le funzioni metaboliche a *lungo termine* e comunica tramite sostanze chiamate *ormoni*.

Il sistema endocrino comprende le cellule e i tessuti ghiandolari, cioè che secernono ormoni nel circostante fluido interstiziale. Quest'ultima è la caratteristica che differenzia le cellule endocrine da quelle esocrine. Le cellule esocrine rilasciano il loro secreto sulla superfice epiteliale di rivestimento della ghiandola dove viene poi convogliato in appositi condotti. La maggior parte delle cellule endocrine è racchiusa in ghiandole preposte alla produzione e secrezione di determinati ormoni. Alcuni organi, come il pancreas e i testicoli, sono invece organizzati in aree con cellule a secrezione endocrina e aree con cellule a produzione esocrina. Si trovano cellule endocrine anche in organi la cui funzione principale non è quella di secernere ormoni, ad esempio il tessuto adiposo, i reni, il cuore, il fegato, la cute e il tratto gastro-intestinale.

Le ghiandole endocrine sono prive di dotti collettori perché, essendo molto irrorate da vasi sanguigni, gli ormoni secreti vengono immediatamente riversati nel sangue e messi in circolo. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

2.1 *Gli ormoni*

Gli ormoni sono dei messaggeri chimici che regolano i processi metabolici di cellule periferiche, denominate "cellule *bersaglio*" o anche "cellule *target*". Queste cellule possiedono dei *recettori* che consentono loro di ricevere gli stimoli dagli ormoni circolanti. Esistono recettori specifici per ogni ormone; questi possono essere presenti sulla superficie della membrana cellulare oppure all'interno della cellula stessa. Ogni cellula può avere più recettori diversi, e quindi essere stimolata da diversi ormoni; come un singolo ormone, potendo influenzare più cellule, può innescare diverse risposte in diversi tessuti. Un basso quantitativo di ormoni è sufficiente per modificare l'attività delle cellule bersaglio a cui sono destinati. L'entità della risposta cellulare è determinata principalmente dalla concentrazione di

ormoni nel fluido extracellulare e dalla densità di recettori presenti sulla membrana o nel citoplasma della cellula target. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

2.1.1 *La comunicazione ormonale*

La comunicazione tramite ormoni viene distinta in *comunicazione locale* e *comunicazione a lunga distanza*.

La comunicazione locale si differenzia a sua volta in comunicazione *paracrina* e *autocrina*. La comunicazione paracrina si verifica quando la molecola-segnale (ormone) prodotta si lega ad un recettore di una cellula adiacente alla cellula da cui è stata secreta. Ciò avviene tramite la creazione di *gap-junctions*, che sono dei punti connessione diretta tra il contenuto citoplasmatico di due cellule contigue, in cui l'ormone prodotto da una si lega ai recettori citoplasmatici dell'altra; oppure grazie a dei *segnali contatto-dipendenti*, in cui avviene un'interazione tra le membrane di due cellule limitrofe che vede l'ormone sintetizzato da una legarsi al recettore posto sulla membrana della cellula vicina. La comunicazione locale si definisce autocrina quando la molecola-segnale prodotta si lega ad un recettore della stessa cellula.

Per la comunicazione a lunga distanza, oltre che i neurotrasmettitori utilizzati dai neuroni del sistema nervoso e i neurormoni citati in paragrafi precedenti, l'organismo si serve dei classici ormoni secreti dalle cellule endocrine dei tessuti ghiandolari e trasportati nel segue (in forma disciolta o legati a molecole apposite). (Sjaastad O.V. et al., 2013)

2.1.2 *Il controllo a feedback negativo*

La secrezione ormonale è controllata tramite una retro-regolazione, detta ***"feedback negativo"***. Ogni modificazione promossa su un fattore regolato omoestaticamente innesca risposte che tendono a spostare il fattore in direzione opposta a quella che l'ha innescata. Così se la risposta risulta eccessiva le cellule bersaglio istruiscono le cellule endocrine a diminuire la secrezione ormonale.

Vengono attuati due tipi di feedback negativo: ad *ansa corta* e ad *ansa lunga*. Il primo si verifica quando gli ormoni ipofisari liberati risultano essere in quantità sufficienti e abbondanti a livello plasmatico da innescare un meccanismo che va ad inibire l'ulteriore secrezione di neurormoni ipotalamici, così da bloccare il rilascio di ormoni ipofisari. Il secondo parte dalle cellule bersaglio le quali, dopo l'avvenuta

risposta biologica, arrestano la sintesi sia di ormoni ipofisari che dei loro neurormoni regolatori ipotalamici. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

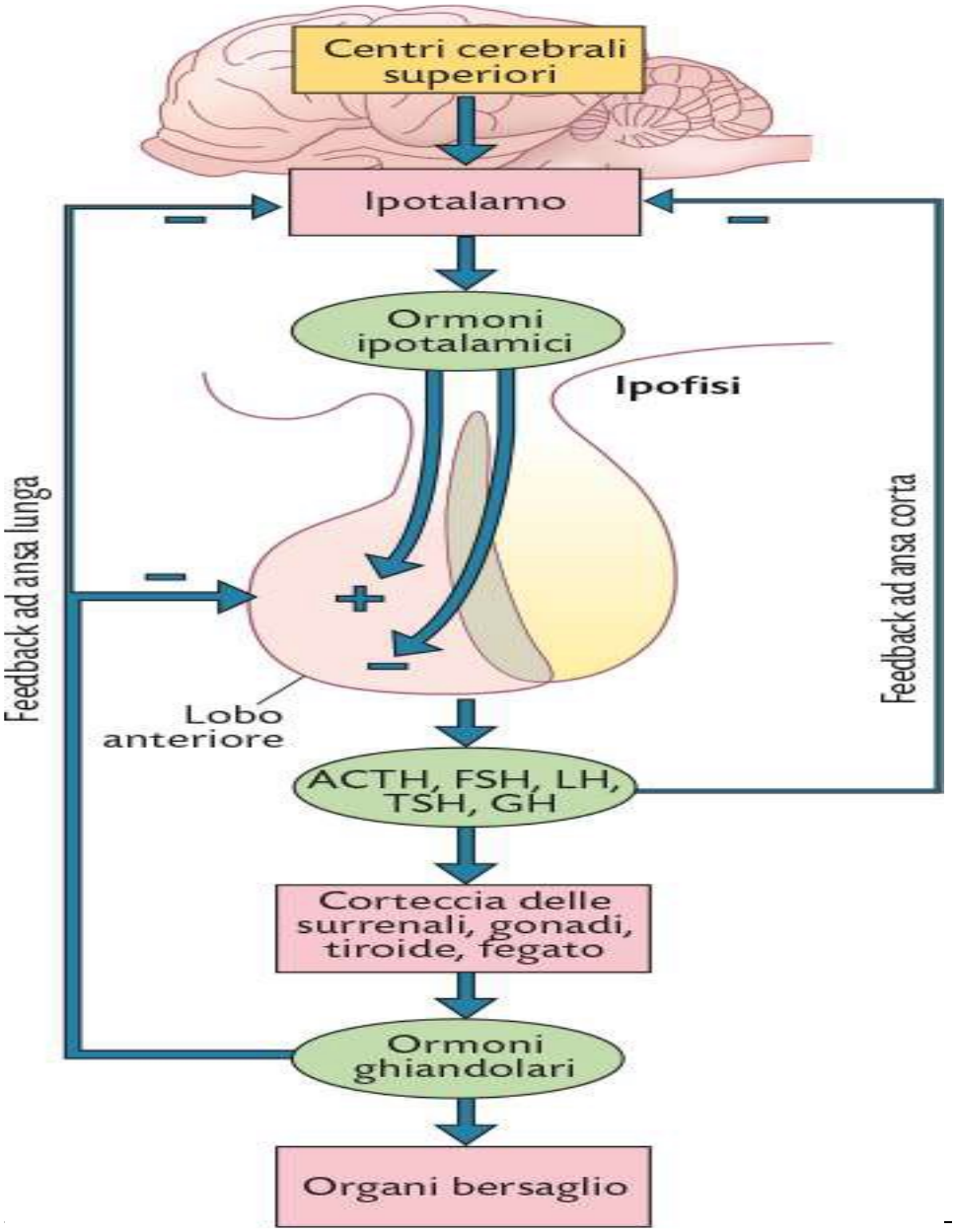

Figura 3 *Il controllo a feedback negativo ad ansa corta ed ansa lunga* - immagine tratta da pdf della prof.ssa E. Giaretta -

CAPITOLO 3

L'ASSE IPOTALAMO-IPOFISI-SURRENE

L'***asse ipotalamo-ipofisi-surrene*** viene anche identificato con l'acronimo *"HPA"*. Questo asse neuroendocrino viene attivato quando il cane percepisce nell'ambiente la presenza di fonti di stress. In questo modo l'organismo risponde cercando di ripristinare l'omeostasi. Sono coinvolte, appunto, tre strutture: l'ipotalamo, un organo del sistema nervoso, l'ipofisi, un'importante ghiandola endocrina, e le ghiandole surrenali, ghiandole endocrine poste cranialmente ai reni. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

3.1 *L'ipotalamo*

L'***ipotalamo*** è una struttura del sistema nervoso: rappresenta il pavimento del diencefalo (struttura menzionata inizialmente, facente parte dell'encefalo, il quale, assieme al midollo spinale, costituisce il S.N.C.). Controlla le funzioni autonome e l'omeostasi tramite: la coordinazione del sistema nervoso autonomo, la regolazione del sistema endocrino e il monitoraggio della temperatura dell'encefalo. Svolge un ruolo fondamentale nella termoregolazione, nel mantenimento dell'omeostasi e nel controllo dell'osmolarità dei liquidi organici. Determina gli stimoli della sete, della fame e della libido. Regola, inoltre, anche l'ingestione, l'escrezione e l'urinazione.

Quest'organo riceve informazioni sia dall'ambiente esterno che da quello interno e può essere identificata come l'interfaccia tra il sistema nervoso e quello endocrino. Su quest'ultimo esercita un controllo diretto e indiretto. Il controllo diretto viene effettuato grazie alla produzione di neurormoni che influenzano le secrezioni ormonali dell'ipofisi. Controlla così, in maniera indiretta, i vari organi dall'attività ormono-dipendente, regolando la secrezione di ormoni ipofisari che condizionano le diverse cellule bersaglio. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

3.1.1 *I neurormoni ipotalamici*

I neurormoni ipotalamici si dividono in gruppi in base alla loro funzionalità: neurormoni *rilascianti* (-RH), i quali stimolano l'ipofisi a sintetizzare e liberare determinati ormoni, e neurormoni *inibenti* (-IH), ad azione bloccante, i quali inibiscono direttamente la secrezione di ormoni ipofisari.

I neurormoni rilascianti sono presenti e riconosciuti per tutti i diversi ormoni adenoipofisari, mentre non si può dire lo stesso per i neurormoni inibenti. Questi ultimi, ad oggi, sembrano essere soltanto due: la PIH (dopamina), la quale inibisce la secrezione di PRL e la GHIH (somatostatina), la quale inibisce sia il GH che il TSH. I neurormoni stimolanti sono: ***ACTHRH***, TRH, GHRH, GnRH, PRLRH. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

3.1.2 *L'ormone rilasciante corticotropina*

L'***ACTHRH*** (ormone rilasciante l'ormone adrenocorticotropo) può essere anche definito "ormone rilasciante corticotropina" (***CRH***).

Per la sua composizione chimica si definisce un ormone neuropeptidico, formato appunto da una catena di 41 amminoacidi.

Il CRH regola le funzioni neuroendocrine, simpatiche e comportamentali in risposta allo stress, infatti viene abbondantemente sintetizzato nell'ipotalamo quando si verificano condizioni esterne all'organismo ritenute motivo di stress, ansia o paura.

L'ACTHRH, inoltre, provoca l'attivazione del sistema nervoso centrale, aumenta l'attività del sistema nervoso simpatico e la pressione sanguigna, stimola il rilascio delle citochine e aumenta la loro attività sulle cellule bersaglio. Al contrario, diminuisce la funzione riproduttiva, riducendo la sintesi dell'ormone di liberazione delle gonadotropine (GnRH) e inibisce il comportamento sessuale.

Il CRH agisce legandosi ai recettori di membrana presenti sulle cellule endocrine dell'***adenoipofisi*** e innesca l'attivazione dell'***adenilatociclasi***. Con questo meccanismo è facilitato il rilascio di ***ACTH*** da parte dell'adenoipofisi. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

3.2 *L'ipofisi*

L'***ipofisi***, detta anche ghiandola *pituitaria*, è la ghiandola endocrina più importante dell'organismo. Essa è un piccolo organo dispari, situato in una tasca ossea dell'area inferiore del cranio, una depressione presente ventralmente rispetto all'osso sfenoide. Si trova proprio sotto all'ipotalamo, struttura con cui comunica attraverso il *peduncolo ipofisario*, o più tecnicamente *"distretto ipotalamico"*: un prolungamento tissutale dell'ipotalamo ricco di fibre nervose e vasi sanguigni.

Morfologicamente e funzionalmente l'ipofisi si suddivide in tre lobi: lobo posteriore (o neuroipofisi), lobo intermedio e lobo anteriore (o adenoipofisi). Il lobo posteriore è un'estensione dell'encefalo e quindi è composto prevalentemente da tessuto neurale. Gli altri due lobi invece sono costituiti totalmente da tessuto endocrino di origine epiteliale. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

3.2.1 *Ormoni ipofisari*

Gli ormoni secreti dalla ghiandola pituitaria differiscono tra loro in base al tipo di lobo in cui vengono sintetizzati:

- ➔ la neuroipofisi secerne l'ADH e l'ossitocina;
- ➔ il lobo intermedio sintetizza soltanto MSH;
- ➔ l'adenoipofisi invece scerne diversi ormoni, tra cui l'***ACTH***, importante nell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene stimolato dalla paura (oggetto di questa tesi). (Sjaastad O.V. et al., 2013)

3.2.2 *Gli ormoni adenoipofisari*

L'adenoipofisi sintetizza *ormoni trofici*, cioè molecole in grado di attivare l'attività secretoria delle cellule endocrine bersaglio e, contemporaneamente, modulare e promuovere la loro proliferazione e la loro crescita morfologica. Ognuno di questi ormoni avrà un trofismo selettivo per una specifica tipologia di cellule bersaglio collocate negli organi alla periferia del sistema. La ghiandola pituitaria contiene cinque tipi diversi di cellule endocrine, le quali secernono sei differenti ormoni peptidici, cioè:

1. TSH (tireotropina/ormone stimolante la tiroide);
2. ***ACTH*** (ormone adrenocorticotropo);
3. FSH (ormone follicolo-stimolante);
4. LH (ormone luteinizzante);

5. GH (ormone della crescita) o STH (somatotropina);
6. PRL (prolattina).

Come sopracitato, l'ormone che tra questi risulta essere di rilievo in questo elaborato è l'***ACTH***, noto anche come ***corticotropina***. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

3.2.3 *La corticotropina*

Proseguendo lungo l'asse HPA descritto in questo capitolo, in seguito all'attivazione del sistema nervoso e il rilascio di CRH a livello ipotalamico, all'ipofisi arriva lo stimolo per la produzione di ***ACTH***.

Chimicamente è un ormone polipeptidico composto da 39 amminoacidi.

La sintesi ipofisaria di ACTH avviene a partire da una proteina chiamata Pro-opiomelancortina (a sua volta derivata dalla Pre-pro-opiomelancortina). Tale proteina, dopo aver subìto una serie di modifiche post-traduzionali, va incontro a una serie di tagli proteolitici da cui originano diversi frammenti peptidici.

L'ACTH rilasciato dall'adenoipofisi stimola la corteccia surrenale per il rilascio di glucocorticoidi (cortisolo e corticosterone). Si lega con i recettori di membrana localizzati sulle cellule endocrine della corticale del surrene.

Quando lo stimolo stressogeno cessa di insultare l'organismo, la secrezione di corticotropina viene inibita dal meccanismo a feedback negativo *[vedi capitolo 2, paragrafo 2.1.2]*.

In quanto ormone peptidico, verrà espulsa tramite le urine dopo essere stata inattivata in fegato e reni. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

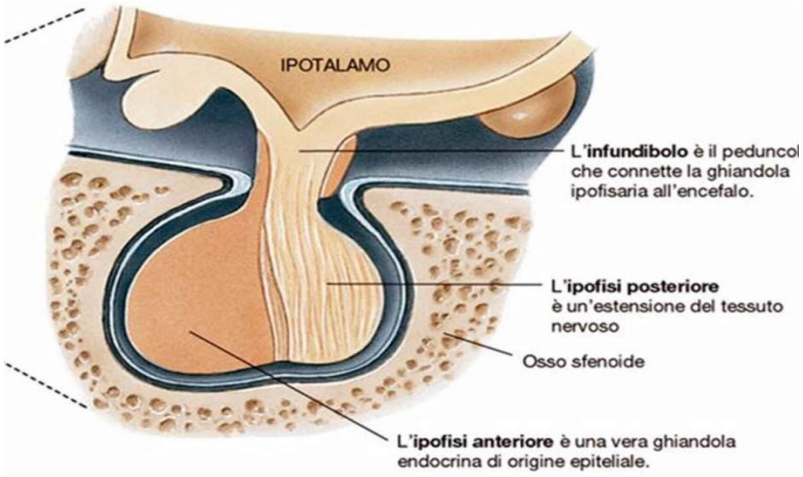

Figura 4 *Strutture morfologiche di ipotalamo e ipofisi* - immagine modificata dal sito web "skuola.net" –

3.3 *La comunicazione ipotalamo-ipofisi*

L'ipotalamo comunica con la neuroipofisi mediante *fasci di assoni*, mentre con l'adenoipofisi e il lobo intermedio attraverso il ***sistema portale ipotalamo-ipofisario.*** Questo sistema è una rete vascolare costituita da due reti capillari poste in serie. I neurormoni ipotalamici vengono riversati nei capillari ipotalamici e discendono la vena porta. Diffondono attraverso la seconda rete capillare entrando in contatto con le cellule endocrine dei lobi anteriore ed intermedio dell'ipofisi. Questo sistema vascolare è fondamentale perché assicura il pronto e rapido trasferimento dei neurormoni ipotalamici alle cellule endocrine ipofisarie, impedendone l'immissione nel circolo sistemico. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

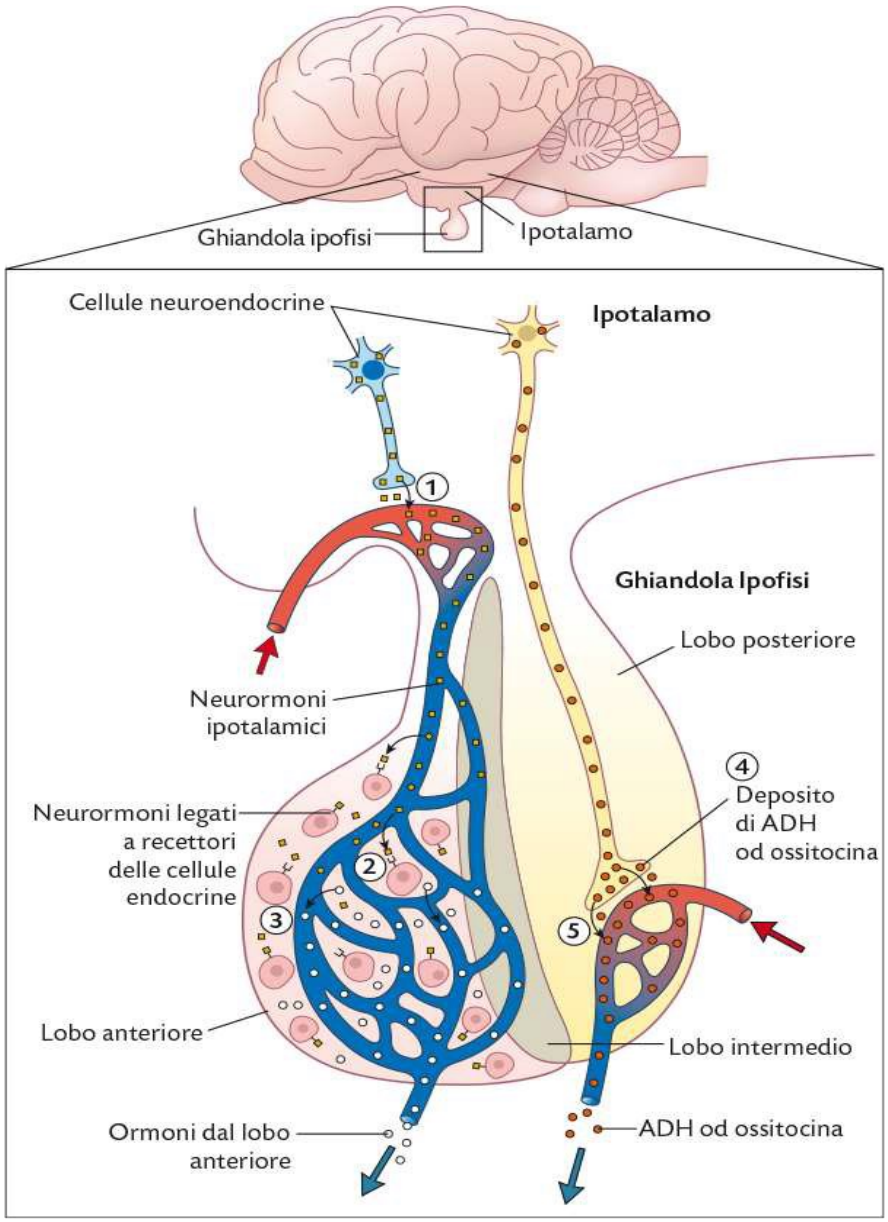

Figura 5 *La comunicazione asse ipotalamo-ipofisi* - immagine tratta da pdf della prof.ssa E. Giaretta –

3.4 *Le ghiandole surrenali*

Le surrenali sono ghiandole pari, poste ciascuna cranio-medialmente rispetto al rene corrispondente (di destra e di sinistra).

Morfologicamente si distinguono due parti: quella esterna, chiamata ***corticale***, e quella interna, detta ***midollare***. Entrambe sono costituite da tessuto ghiandolare con cellule a secrezione endocrina. Funzionalmente sono legate all'asse ipotalamo-ipofisi a completare l' "HPA axis".

Sono ghiandole importanti per l'organismo di un animale sottoposto a stress in quanto producono gli ormoni che entreranno nella circolazione ematica, andando ad influenzare molti organi periferici, modificandone le risposte biologiche. In particolare vediamo due ormoni:

- il ***cortisolo*** (secreto dalla *corticale*, la quale è stimolata dall'ormone adrenocorticotropo adenoipofisario);

- l'***adrenalina*** (liberata dalla *midollare*, la quale è stimolata dal neurotrasmettitore acetilcolina liberato in essa dalle fibre simpatiche dei neuroni pregangliari). (Sjaastad O.V. et al., 2013)

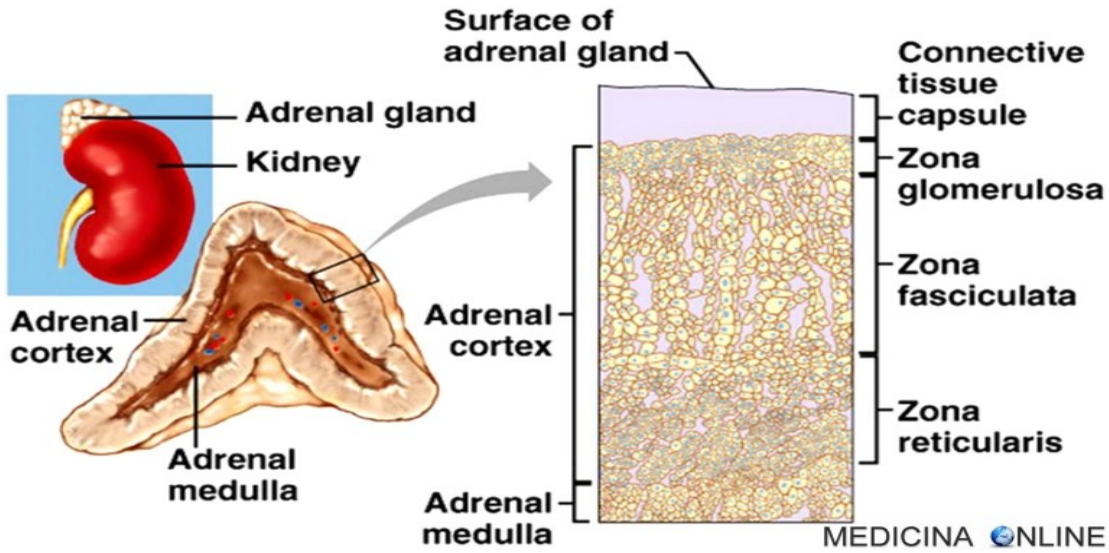

Figura 6 *La morfologia delle ghiandole surrenali* - immagine tratta dal sito web "MedicinaOnLine.co" -

3.4.1 *La corticale del surrene*

La porzione esterna della ghiandola surrenale rappresenta circa il 90% della massa totale del surrene.

La corticale del surrene viene stimolata dall'ACTH prodotto dall'adenoipofisi, in seguito al rilascio del neurormone ipotalamico CRH nel sistema portale ipotalamo-ipofisario.

Morfologicamente e funzionalmente la corticale si divide in tre stratificazioni diverse:

1) zona *glomerulare* (la più esterna), secernente *mineralcorticoidi*;
2) zona ***fascicolata*** (intermedia), sintetizzante *glucocorticoidi*;
3) zona *reticolare* (la più interna), la quale produce *ormoni sessuali*.

Questa ghiandola secerne ormoni steroidei, chiamati propriamente *ormoni corticosurrenali*, a partire dal *COLESTEROLO* ematico. La maggior parte del colesterolo, usato come precursore dei vari ormoni prodotti nelle surrenali, viene captato dal plasma grazie a un meccanismo di endocitosi recettore-mediato delle lipoproteine LDL, ricche di colesterolo. Le LDL, il cui ruolo è quello di trasportare il colesterolo alle diverse cellule, vengono poi degradate a livello intracellulare dagli enzimi lisosomiali. Tale degradazione avviene proprio grazie all'ACTH liberato, il quale va ad attivare l'enzima PKA. La ***PKA*** è un enzima lisosomiale responsabile della fosforilazione delle lipoproteine LDL, infatti agisce attivando le esterasi in modo tale che i legami di tipo estereo vengano rotti così che il ***colesterolo*** possa essere reso disponibile.

Una volta sintetizzati, gli ormoni della corticale, vengono poi liberati nel circolo ematico e trasportati nel plasma da delle specifiche proteine di trasporto. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

3.4.2 *Il cortisolo*

Il ***CORTISOLO*** è il principale ormone liberato in risposta allo stress.

Fa parte degli ormoni glucocorticoidi sintetizzati nella zona fascicolata della corticale. I due ormoni glucocorticoidi più conosciuti sono il cortisolo, appunto, e il corticosterone. Il corticosterone, però, ha un'importanza inferiore rispetto al cortisolo data la sua scarsa attività biologica.

Circa il 70% del cortisolo circolante è legato alla *CBG (transcortina)*, il 22% all'albumina e l'8% circola nel sangue come cortisolo libero. Ha un'emivita piuttosto lunga.

La secrezione di cortisolo è regolata da un sistema a feedback negativo che coinvolge l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. Il neurormone ipotalamico **ACTHRH**, o CRH, è l'impulso per l'adenoipofisi a secernere **ACTH**, che a sua volta, tramite l'attivazione dell'**adenilatociclasi**, innesca la produzione di **cortisolo** nella corticale del surrene. Lo stress aumenta la liberazione di cortisolo, modificandone il rilascio secondo il ritmo circadiano. Quando un animale è sottoposto a periodi prolungati di stress, e quindi il livello ematico di ACTH è mantenuto elevato per promuovere una continua e abbondante secrezione di cortisolo, le dimensioni della zona fascicolata della corticale del surrene aumentano.

Tutte le cellule nucleate dell'organismo possiedono recettori per il cortisolo posti nel citosol. Il cortisolo, essendo un ormone liposolubile, diffonde facilmente attraverso le membrane cellulari e si lega rapidamente ai recettori.

Esercita molti effetti sulle varie cellule-target che raggiunge.

- Principalmente noto come "ormone dello stress": lo stress aumenta la liberazione di cortisolo, modificandone il rilascio secondo il ritmo circadiano. Quando un soggetto è sottoposto a periodi prolungati di stress, e quindi il livello ematico di ACTH è mantenuto elevato per promuovere una continua e abbondante secrezione di cortisolo, le dimensioni della zona fascicolata della corticale del surrene aumentano.
- Ha però anche un'azione permissiva nei confronti degli effetti indotti da altri ormoni. Cioè è un agonista di ormoni come le catecolamine (per indurre vasocostrizione) e le cellule che sintetizzano glucagone (affinchè queste possano rispondere prontamente in caso di elevate concentrazioni di glucosio nel sangue).
- Risulta essenziale per evitare un decremento della pressione arteriosa e per garantire un'adeguata risposta dell'organismo in caso di ipoglicemia. Infatti, stimola la gluconeogenesi e inibisce l'utilizzazione di glucosio ematico da parte delle cellule, soprattutto in casi in cui l'ipoglicemia è dovuta da protratte condizioni stressanti.
- Inoltre, a elevate concentrazioni, funge da catabolita, in quanto stimola la degradazione di proteine e lipidi, aumentando così il livello ematico di amminoacidi e acidi grassi, portando a una potenziale situazione di iperglicemia.
- In caso di secrezione prolungata di cortisolo si ha un'inibizione della sintesi di DNA in molti tessuti. Tale effetto negativo, unito alla degradazione eccessiva delle proteine citata qui sopra, provoca un forte rallentamento della crescita. Questo permette la sopravvivenza dell'animale in estreme situazioni di stress prolungato (esempio mancanza di cibo), dove le risorse sono così limitate che può essere soddisfatto soltanto il fabbisogno di mantenimento di base.

- Oltre a ciò, interferisce anche con il sistema immunitario, portando a immunosoppressione. Ad esempio, un elevato livello di cortisolo provoca una riduzione o un blocco della risposta infiammatoria attuata dall'organismo come difesa. L'immunosoppressione perinatale è una situazione fisiologica che si verifica nei neonati legata al forte incremento di cortisolo che innesca il processo del parto. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

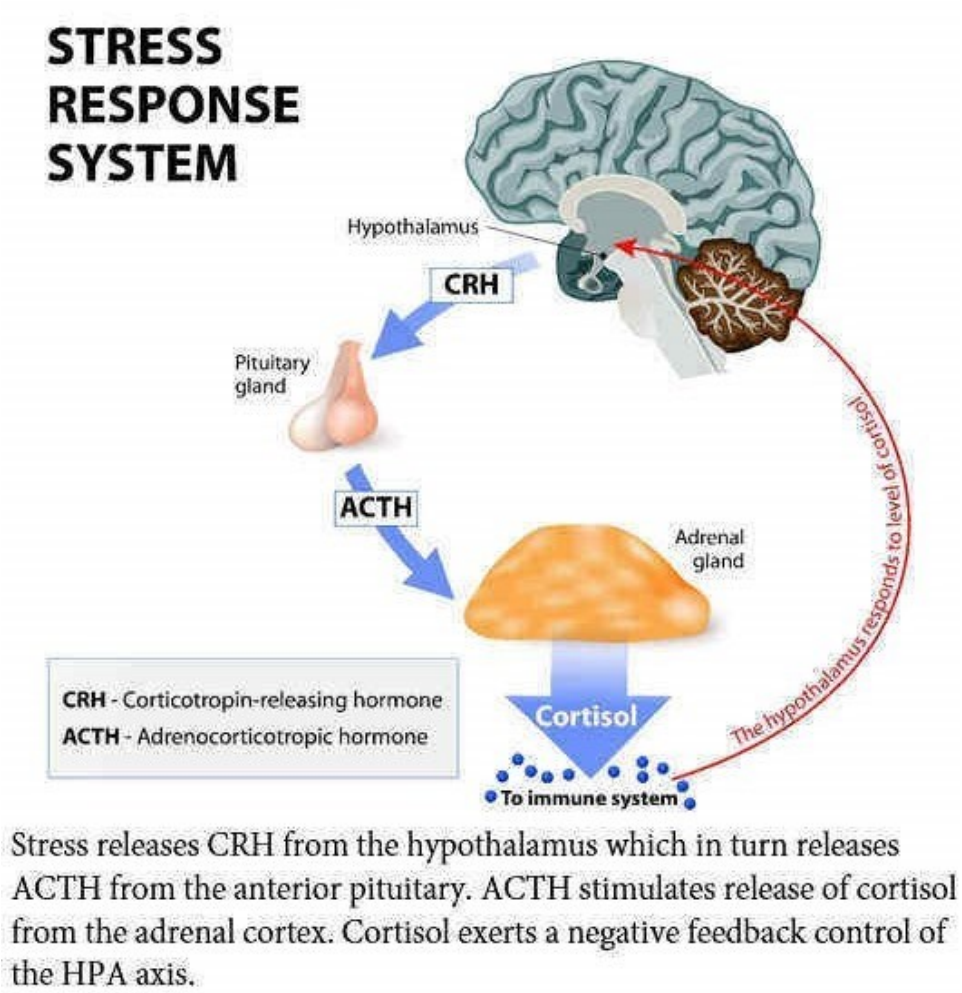

Figura 7 *Completamento dell'asse ipotalamo-adenoipofisi-corticale del surrene che si attiva per rispondere agli stimoli di stress* - immagine modificata dal sito web "psychscenehub.com" -

3.4.3 *La midollare del surrene*

La midollare del surrene rappresenta lo stretto rapporto che c'è tra il sistema nervoso e il sistema endocrino.

Le emozioni negative scatenate da **situazione stressanti**, quali la paura e l'ansia, vengono captate ed elaborate nel sistema limbico del cervello dei cani *[vedi capitolo1, paragrafo 1.2.1]*. Di questo particolare sistema fa parte anche l'ipotalamo, il quale controlla indirettamente anche la midollare del surrene. Il **sistema limbico** rileva, dalle informazioni che giungono al cervello soprattutto tramite i nervi olfattivi, la fonte che causa stress, aumentando l'attività ipotalamica. L'**ipotalamo**, oltre a rispondere con la produzione di CRH che innesca il meccanismo fin'ora descritto dell'asse HPA, stimola il S.N.P. Autonomo. La divisione di S.N.P.A. che viene principalmente sollecitata risulta essere la divisione **simpatica** (Smith M.S. e Vale W.W., 2006).

L'attivazione del sistema nervoso simpatico attiva il meccanismo di reazione di paura-attacco-fuga *[vedi capitolo 1, paragrafo 1.3.2]*.

Si attiva anche una particolare comunicazione con la midollare del surrene. Infatti, per comunicare con i reni, il S.N.P. non è dotato della normale struttura (S.N.C. - neurone pregangliare - neurone postgangliare - cellule effettrici dell'organo bersaglio), ma le fibre dei **neuroni simpatici pregangliari**, che si continuano dal **Ganglio Celiaco**, arrivano direttamente alla **midollare del surrene**.

Qui si trovano i corpi cellulari dei neuroni simpatici postgangliari (che hanno perso i loro assoni) che ricevono i neurotrasmettitori inviati dai neuroni simpatici pregangliari. Le cellule secretorie della midollare surrenale, dette *cellule di Cromaffini*, rilasciano adrenalina (80%), noradrenalina (20%) e tracce di dopamina quando sono stimolate dall'***ACh***.

Dal punto di vista <u>funzionale</u> adrenalina (o *epinefrina*) e noradrenalina (o *norepinefrina*) sono definite <u>*NEURORMONI*</u>: agiscono come neurotrasmettitori del sistema nervoso, ma circolano nel sangue come ormoni. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

3.4.4 *Le catecolamine*

Per quanto riguarda la composizione chimica, epinefrina e norepinefrina, chiamate anche "*catecolamine"*, sono ormoni idrosolubili derivati dall'amminoacido tirosina.

Nella maggior parte dei mammiferi si ha una produzione maggiore di adrenalina. In un soggetto a riposo si evidenzia un livello di noradrenalina superiore rispetto a quello di adrenalina. Infatti, a riposo, la norepinefrina viene maggiormente rilasciata in circolo dalle terminazioni nervose simpatiche postgangliari (come specifico neurotrasmettitore). Mentre, l'epinefrina viene liberata solamente dalla midollare del surrene. Ecco spiegato il motivo per cui i livelli ematici di noradrenalina rimangono piuttosto stabili nel tempo, mentre quelli dell'adrenalina sono molto variabili in base allo stato funzionale dell'organismo. Perciò l'adrenalina è la principale che regola le risposte organiche dell'organismo promosse dalle catecolamine.

Le catecolamine sono sintetizzate a partire dalla *tirosina*, la quale dev'essere preventivamente convertita in *diidrossifenil-alanina* (L-DOPA) dall'enzima tirosina-idrossilasi.

La secrezione è stimolata da una maggiore attività delle fibre nervose pregangliari simpatiche che mandano imput nervosi ai neuroni postgangliari localizzati nella midollare del surrene. I neuroni pregangliari rilasciano ***acetilcolina***, che va a depolarizzare la membrana plasmatica delle cellule midollari. Con la *depolarizzazione* si determina un potenziale d'azione, seguito poi da un rapido *flusso di Ca2+ intracellulare* che provoca l'esocitosi del contenuto vescicolare. L'esocitosi delle catecolamine (precedentemente stoccate nelle vescicole intracitoplamatiche) permette il loro rilascio nel fluido extracellulare. Da qui passano al sangue, dove circolano liberamente per circa 10-15 secondi.

Il loro metabolismo avviene attraverso fegato e reni. Una piccola parte di catecolamine non inattivate può essere espulsa tramite le urine; quindi l'escrezione urinaria di adrenalina fornisce, indirettamente, un indice sull'attività secretoria della midollare del surrene.

Le catecolamine agiscono sulle cellule target legandosi ai loro recettori di membrana, chiamati ***recettori adrenergici***. Tali recettori sono di due tipi: α e β. Entrambi si suddividono in due sotto gruppi: α_1 e α_2, e β_1 e β_2.

I recettori α-adrenergici sono i più diffusi. La loro attivazione promuove un aumento della concentrazione di Ca^{2+} intracellulare stimolando l'attività delle cellule target. Questi recettori hanno la stessa affinità di legame sia con l'epinefrina che con la norepinefrina.

I recettori β-adrenergici promuovono l'attivazione dell'adenilatociclasi con conseguente stimolazione delle cellule ghiandolari endocrine della zona fascicolata della corticale del surrene (le quali secernono

cortisolo). I recettori β_1 si trovano quasi esclusivamente sulle cellule miocardiche, mentre i recettori β_2 sono posti nelle arteriole dei muscoli scheletrici e del miocardio, sulle cellule muscolari lisce dei bronchioli e sulle cellule ghiandolari e sugli epatociti.

L'attivazione dei recettori β_1-adrenergici porta infatti a un aumento della frequenza cardiaca e della gittata sistolica.

L'attivazione dei recettori β_2-adrenergici, invece, promuove la dilatazione delle arteriole che si trovano nei muscoli scheletrici, nel miocardio e nei muscoli lisci dei bronchioli; inoltre, può causare anche iperglicemia dato il suo effetto sull'avvio della glicogenolisi a livello epatico.

I recettori α-adrenergici vengono stimolati in maniera equivalente sia da epinefrina che da norepinefrina, così come accade anche per i recettori β_1-adrenergici. Mentre, i recettori β_2-adrenergici sono attivati soltanto dall'adrenalina e sono molte sensibili alla sua influenza.

L'effetto vascolare della noradrenalina circolante che va a legarsi a questi specifici recettori innesca un fenomeno di *vasocostrizione*. Invece, l'effetto vascolare dell'adrenalina è fortemente condizionato dalla sua concentrazione ematica: un lieve aumento di epinefrina stimola prevalentemente i recettori β_2-adrenergici, provocando il *rilassamento delle cellule muscolari lisce* e una minor resistenza arteriolare; un alto livello ematico di questa catecolamina porta ad una maggiore attivazione dei recettori α-adrenergici, causando soltanto moderati effetti sulla resistenza vascolare. (Sjaastad O.V. et al., 2013)

3.5 *Una possibile disfunzione dell'asse HPA*

In uno studio di sul funzionamento dell'asse HPA, ha evidenziato che il mantenimento dell'omeostasi in presenza di reali o presunti stimoli ricevuti da fattori stressogeni è una sfida che richiede l'attivazione di una gamma complessa di risposte che coinvolgono il sistema endocrino, nervoso e immunitario.

La regolazione inadeguata della risposta allo stress può essere legata a un'ampia gamma di patologie tra cui malattie autoimmuni, ipertensione, disturbi affettivi.

In questo articolo si è brevemente discusso sui sistemi nervosi e sistemi endocrini che contribuiscono al mantenimento dell'omeostasi in situazioni di stress. Chiaramente riconosciuto il ruolo di ciascuno di questi sistemi e il loro meccanismo funzionale, si potrà in futuro fornire nuovi bersagli terapeutici per il trattamento e la profilassi dei disturbi legati allo stress, inclusa l'ansia, problematiche legate all'alimentazione e al metabolismo energetico. (Smith M.S. e Vale W.W., 2006)

CAPITOLO 4

LO STRESS NEL CANE

"Stress" è una parola con molti significati; in questa tesi ci si riferisce a fattori esterni che alterano, o minacciano di alterare, l'ambiente interno dell'organismo. Gli stressor (stimoli stressogeni) possono essere, ad esempio, la temperatura ambientale, l'esercizio fisico, il dolore, la paura, sforzi emotivi o psicologici.

Lo stress ha molti effetti negativi sia psicologici che fisici. Fisiologicamente aumenta la secrezione di cortisolo, il quale provoca un rallentamento della digestione, una degradazione delle riserve energetiche dell'organismo, un aumento della pressione sanguigna e un debilitamento del sistema immunitario. A causa di questi effetti, l'individuo è più soggetto a contrarre malattie infettive e a manifestare alterazione nella funzionalità cardio-vascolare.

Solitamente nei cani lo stress è associato alla paura e all'ansia, la quale può essere causata dalla relazione con i padroni umani, da scarsa socializzazione con i con-simili oppure a causa del carattere timido ed introverso del soggetto.

L'ansia è un'emozione fondamentale, altamente conservata durante l'evoluzione in molte specie di mammiferi. Le emozioni potrebbero essersi evolute in quanto coordinano i sistemi di risposta dell'organismo necessari ad affrontare, ad esempio, situazioni potenzialmente pericolose. L'ansia è una risposta adattativa quando un animale si confronta con un potenziale pericolo o una minaccia, preparandosi ad una reazione di paura-attacco-fuga. Tuttavia, può trasformarsi in una patologia quando è prolungata, non regolata e generalizzata.

Nei cani la paura e l'ansia, entrambe emozioni con valenza negativa, possono essere difficili da differenziare e i termini sono spesso usati in modo intercambiabile per descrivere risposte comportamentali e fisiologiche analoghe a stimoli esterni. La paura è considerata una reazione istintiva di breve durata, attivata da stimoli specifici (esempio certe persone o oggetti specifici) percepiti come minacce esterne e causa di reazioni difensive (lotta o fuga). L'ansia, invece, come precedentemente affermato, può essere protratta nel tempo, e non ha come causa uno specifico oggetto di minaccia. È l'anticipazione di pericoli futuri sconosciuti o immaginati e si traduce in reazioni corporee che sono normalmente associate alla paura (come l'aumento della frequenza cardiaca e respiratoria, della motilità intestinale, della tensione muscolare, della sudorazione).

Si ritiene che, nel cane, molti disturbi organici e comportamentali siano causati o direttamente correlati alla presenza di uno stress eccessivo: questo è responsabile della comparsa di sintomi somatici come aumento della frequenza respiratoria e cardiaca, alterazioni vasomotorie, tremori o paralisi, aumento della salivazione, disturbi gastrointestinali. In generale, si accetta l'idea che la maggior parte dei problemi comportamentali abbiano una correlazione con l'ansia e lo stress. Nel cane (così come negli altri animali) diventa patologica quando si protrae e cresce a livello endogeno senza che ci siano condizioni ambientali che lo giustificano, diventando, così, incontrollabile per l'animale. (Zuccolo D., a.a.2020/2021)

4.1 *Tipologie di stress*

Lo stress può essere causato saltuariamente nella vita di un cane, a causa di un'esperienza negativa, momentanea, un trauma fisico, una sbagliata interazione con degli con-specifici.

Ci sono però animali più soggetti a vivere costantemente in una situazione in cui ogni stimolo viene percepito come una possibile minaccia, fino a riversare in una condizione patologica.

4.1.1 *Lo stress acuto*

Quando una condizione fisiologica causa uno *stress acuto* si parla di "eustress".

Ciò comporta la stimolazione simpatica e la secrezione di CRH a livello ipotalamico. Le fibre nervose stimolano la midollare delle ghiandole surrenali, dalle quali viene liberata l'*epinefrina* (per un massimo di 5 minuti).

Il CRH ipotalamico attiva l'asse HPA: a livello della corticale del surrene, nell'arco di pochi minuti, si ha il rilascio di cortisolo fino a 20 volte superiore a un livello normale.

Quando termina lo stressor, avviene una regolazione a feedback negativo: l'eccesso ematico di cortisolo inibisce ulteriori liberazioni di CRH a livello ipotalamico (feedback ad ansa lunga) e di ACTH a livello adenoipofisario (feedback ad ansa corta).

4.1.2 *Lo stress cronico*

Una condizione ritenuta stressante dal cane può protrarsi nel tempo e portare ad una condizione patologica: lo *stress cronico*, detto "distress".

Questa patologia causa un continuo dispendio energetico all'organismo, che tenta di combattere lo stressor e ristabilire il normale equilibrio iniziale. In questo modo il cane ha meno energia per tutte le altre funzioni corporee: mantenimento, digestione, accrescimento, efficienza del sistema immunitario. Un cane con condizione di stress cronico è debilitato, più soggetto a contrazione di malattie virali e problemi cardiaci e metabolici.

Soprattutto nei soggetti in cui la risposta allo stress, o comunque la capacità di adeguarsi alle situazioni stressogene, non è molto performante, il meccanismo di autoregolazione comincia a non lavorare più correttamente. Si crea di fatto una **sovrastimolazione** da parte dei vari mediatori chimici a livello ipotalamico ed ipofisario e una riduzione dei recettori specifici. Pertanto uno **scorretto feedback** di segnalazioni che arrivano dalla periferia, e quindi un'alterata ricezione della reale necessità di tutti quei specifici mediatori chimici utili ad affrontare in maniera adeguata l'agente stressogeneo, sia esso cognitivo o chimico-fisico. Essendoci meno recettori si avrà dunque a livello centrale la sensazione che la risposta non sarà stata adeguata o comunque troppo poco incisiva e quindi si continuerà ad attivare l'asse dello stress che andrà così in una sorta di **cortocircuito**. Questo malfunzionamento si rifletterà inevitabilmente anche su tutti gli altri assi regolatori.

4.2 *Studi scientifici*

Recentemente si sono svolti molti studi scientifici per trovare più indicatori possibili per monitorare lo stress nel cane a livello fisiologico, in modo da prevenire lo stress patologico o, se già evidente uno stato fisiopatologico nell'animale, cercare di aiutare il paziente mettendolo in condizione di rompere il circolo vizioso che si crea in questa patologia.

4.2.1 *Lo stress causa risposta immunitaria (infiammazione)*

Lo studio descritto da Rohleder N.,2019 aveva come obiettivo dimostrare che i sistemi interni all'organismo che rilevano stress e minacce per l'individuo stimolano anche i meccanismi infiammatori.

Si è visto che questa modulazione potrebbe svolgere funzioni protettive a breve termine, ma l'infiammazione di basso grado sostenuta ha una grave ripercussione sulla salute del soggetto a lungo termine. (Rohleder N.,2019)

C'è ad oggi una letteratura sostanziale che descrive come i sistemi attivati per rispondere allo stress sembrano fornire un adattamento a breve termine alle minacce, come innalzamento di glucosio nel sangue, aumento della pressione sanguigna, della frequenza cardiaca, ma anche stimolazione della risposta infiammatoria con aumento di immissione in circolo di citochine, risposta principalmente mediata dal sistema nervoso simpatico (Sapolsky et al., 2000).

Negli anni, le risposte allo stress acuto sono diventate molto ben comprese, giungendo alla conclusione che tali reazioni sono messe in atto per la sopravvivenza immediata.

Sotto stress, anche il sistema immunitario viene modificato e risponde con una infiammazione di basso grado. L'infiammazione di basso grado deve essere attentamente distinta dalle risposte dovute a infezioni o lesioni. Questo tipo di infiammazione si verifica a livello sistemico e non limitato, ad esempio, a un sito locale di ferita o infezione. È molto più bassa, in termini di intensità, di quella che si verificherebbe durante l'infezione acuta o anche nella sepsi. Di solito è anche un fenomeno più a lungo termine.

In bibliografia si distinguono i fattori scatenanti lo stress su due dimensioni: corso e durata. Così facendo, si descrivono due tipi di fattori che causano stress acuto e tre tipi di fattori che causano stress cronici.

I fattori causanti stress acuto sono differenziati in fattori di stress acuti a tempo limitato e brevi periodi stressanti naturali.

I fattori di stress cronici sono considerati più forti e più pervasivi. (Rohleder N.,2019)

Un'ultima categoria, gli stress distanti, descrive i fattori di stress, come ad esempio dei traumi, che in genere si sono verificati in passato e non rappresentano una minaccia attuale al momento dell'osservazione, ma intaccano comunque la salute psicologica di un individuo (Elliot e Eisdorfer, 1982; Segerstrom e Miller, 2004).

4.2.2 *Reazioni fisiologiche alla paura nel cane*

La paura è un problema comportamentale comune nei cani.

Essa è stata definita come "uno stato emotivo che è indotto dalla percezione del pericolo che minaccia il benessere dell'individuo" (Grey, 1987). Di conseguenza, la paura può essere considerata una normale risposta di autoprotezione che aiuta l'animale ad affrontare un ambiente difficile. (Hydbring-Sandberg E. et al., 2004)

Nei cani, è stato riscontrato che il cortisolo aumenta durante diverse situazioni:

- ➔ i trasporti (Kuhn et al. 1991, Bergeron et al. 2002);
- ➔ in seguito a degli shock (Dess et al. 1983);
- ➔ quando esposto a esplosioni sonore (Beerda et al. 1998);
- ➔ durante restrizioni sociali e spazi ristretti (Beerda et al. 1999).

Per una valida interpretazione dello stress, è importante utilizzare entrambi; valutazione dei comportamenti e misure di parametri fisiologici (Beerda et al. 2000). Nei cani, tale metodologia è stata utilizzata negli studi di indagine sullo stress legato alla paura in individui esposti a stimoli come esplosioni sonore, scosse elettriche e contenzione fisica (Beerda et al. 1998, Re et al. 2003).

Ciò che è emerso da questo studio di Hydbring-Sandberg E. et al., 2004 analizzando un campione di cani esposti a degli spari è che nei cani timorosi si verifica un aumento della frequenza cardiaca, del livello di ematocrito e della concentrazione plasmatica di determinati ormoni: cortisolo, progesterone, vasopressina ed endorfine. Rispetto ai cani non timorosi, in quelli timorosi sono stati raggiunti valori significativamente più elevati durante e dopo i colpi di arma da fuoco.

La cosa più sorprendente, a detta degli studiosi, è stata il forte aumento del cortisolo plasmatico e del progesterone durante il test del colpo di arma da fuoco nei cani che avevano paura degli spari; così come la constatazione che le concentrazioni ematiche degli ormoni sopracitati sono state pressochè invariate nei cani che non hanno dimostrato segni di paura.

Hydbring-Sandberg E. et al., 2004 concludono affermando che i risultati hanno dimostrato che la paura è un grave stress per il cane, come evidenziato dalle variabili fisiologiche registrate.

È noto che lo stress e la paura attivano diversi sistemi fisiologici dell'organismo. Viene attivato il sistema nervoso simpatico, che stimola la secrezione di adrenalina e noradrenalina dal midollo surrenale. Inoltre, il sistema nervoso simpatico stimola la milza a rilasciare i globuli rossi immagazzinati, aumentando il livello di ematocrito. Nei cani, questo aumento dell'ematocrito è pronunciato (Reeve et al. 1953). Inoltre, l'attivazione del sistema nervoso simpatico di solito aumenta la pressione sanguigna e la frequenza cardiaca. Lo stress e la paura stimolano anche il sistema ipotalamico-ipofisario-corticale del surrene, che può portare ad aumenti del noto ormone dello stress: il cortisolo, un ormone associato a una strategia passiva, perdita di controllo e depressione (Henry 1993).

4.2.3 *Il cortisolo salivare come possibile marcatore per lo stress acuto*

Nello studio di Takanori Kooriyama e Niwako Ogata (2021) si dice che quando le risposte allo stress vengono attivate dall'asse sistema nervoso simpatico-midollare del surrene e dall'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), viene attivato anche il sistema immunitario. Sebbene il livello di cortisolo è comunemente usato come biomarcatore dello stress, riflette principalmente la risposta dell'asse HPA e non riflette sufficientemente la complessità della risposta allo stress. Pertanto, questo studio si concentra principalmente sulla disponibilità di biomarcatori salivari che riflettono principalmente la risposta allo stress acuto attraverso l'attività dell'asse sistema nervoso simpatico-midollare del surrene e del sistema immunitario nei cani.

Quando un animale va incontro a fattori di stress, il nucleo paraventricolare dell'ipotalamo e il locus coeruleus determinano l'attivazione rapida dell'asse sistema nervoso simpatico-midollare del surrene, che porta al rilascio di catecolamine dal midollo surrenale (noradrenalina e adrenalina) e vengono attivati i nervi simpatici per preparare il corpo a reazioni di combattimento o fuga. Sotto stress, viene inoltre stimolato anche il sistema immunitario come parte di un meccanismo di difesa contro lesioni fisiche e agenti patogeni. (Takanori Kooriyama e Niwako Ogata, 2021)

La risposta nervosa autonomica è immediata, in quanto funge da allarme per l'organismo; svanirà entro 30 - 60 min. (Takanori Kooriyama e Niwako Ogata,2021)

In questo studio di Takanori Kooriyama e Niwako Ogata (2021), il cortisolo salivare ha raggiunto il suo picco tra 16 e 20 minuti dopo l'inizio degli stimoli e per poi ritornare ad un livello basale entro 60 minuti. Takanori Kooriyama e Niwako Ogata (2021) hanno dimostrato che il cortisolo salivare è adeguatamente

correlato con il livello di cortisolo nel sangue, il quale aumenta dopo 15–30 minuti dall'inizio degli stimoli stressogeni. Tuttavia, un altro studio che utilizza il cortisolo nel sangue ha mostrato che il cortisolo raggiunge un picco tra 7 e 15 minuti dopo l'inizio dello stimolo acustico e non ritorna ad un livello basale prima dei 30 minuti dopo lo stimolo (Engeland et al., 1990).

In altri studi si era già dimostrato che i livelli di cortisolo possono essere misurati nella saliva con un metodo non invasivo (Cobb et al., 2016), nelle urine (Nagasawa et al., 2012), nelle feci (Righi et al., 2019).

I livelli di cortisolo salivare sono stati utilizzati più frequentemente negli ultimi anni come monitoraggio dei livelli di stress nei cani. Tuttavia, la variabilità intraindividuale e interindividuale (ad esempio età, sesso, taglia dei cani o condizioni abitative) sembra essere elevata perché si modificano i livelli di cortisolo prima e 20 minuti dopo lo stimolo stressogeno. Si è scoperto che i livelli di CgA di tutti i cani erano diminuiti nei campioni ottenuti dopo lo stimolo stressogeno, ma i livelli di cortisolo sono aumentati nel 40% dei cani e diminuiti nel 60% dei cani rispetto ai campioni ottenuti prima dello stimolo stressogeno. Il picco di cortisolo salivare era già stato stimato dopo 20 min nei cani (Dreschel e Granger,2009).

L'aumento dei livelli di citochine infiammatorie salivari può riflettere l'attivazione di un'infiammazione sistemica da parte degli assi HPA e sistema nervoso simpatico-midollare del surrene (Gold, 2015). Nel contenuto salivare, le citochine provengono dall'infiltrazione attraverso il sangue o dalla cellula locale endocrina nelle ghiandole salivari (Bosch, 2014). Secondo Schafer et al. (2011), la principale via di secrezione di citochine infiammatorie da parte delle ghiandole salivari è influenzato dall'innervazione del sistema nervoso simpatico. Queste molecole sono prodotte principalmente da macrofagi e microglia. Tuttavia, nei cani, gli studi hanno riportato che lo stress acuto, come forte il rumore (Kikkawa et al., 2003) e l'allenamento di difesa di quattro minuti diminuisce significativamente i livelli di SIgA salivari, mentre i livelli di cortisolo salivare aumentano molto (Svobodov´a et al., 2014).

Recentemente, alcuni studi hanno studiato il neuropeptide salivare *vasopressina* (con o senza misurazione dell'ossitocina) in risposta a stimoli stressanti nei cani (ad es. separazione sociale, rumori forti o ambienti sconosciuti) perché sembra che possa essere un marker che riflette l'asse HPA (Aguilera e Rabadan-Diehl, 2000; Pirrone et al., 2019; Jeong et al., 2020).

In genere vasopressina e ossitocina hanno effetti opposti, sulla regolazione dell'emotività e dei comportamenti: l'ossitocina promuove comportamenti prosociali e ansiolitici, mentre la vasopressina promuove comportamenti antisociali e ansiogenici. Però i risultati della vasopressina salivare nei cani

mostrano il contrario in risposta allo stimolo di stress, mentre non si osservano cambiamenti significativi dei livelli di ossitocina (Pirrone et al., 2019; Jeong et al., 2020).

Anche il livello ematico di testosterone può variare con lo stress: Frank et al. (2003), in cani stimolati con ACTH, hanno rilevato che il testosterone ematico non aumenta nei cani maschi, mentre nelle femmine si.

L'articolo si conclude spiegando che dal momento che i campioni di saliva possono essere raccolti in modo non invasivo, i potenziali marcatori per il monitoraggio dello stress nei cani devono essere ulteriormente esplorati. Sebbene diversi analiti discussi in questo articolo sono ancora in fase di sviluppo, analiti salivari appartenenti all'asse sistema nervoso simpatico-midollare del surrene e al sistema immunitario, in combinazione con l'analisi convenzionale del cortisolo (asse HPA), hanno il potenziale per fornire informazioni fisiologiche dettagliate sulle risposte complessive allo stress nei cani. (Takanori Kooriyama e Niwako Ogata, 2021)

4.2.4 *Risposte fisiologiche nel cane durante una visita veterinaria*

Molto interessante è stato leggere lo studio Csoltovaa E. et al., 2017, che, al fine di migliorare il benessere dei cani durante le visite veterinarie, hanno mirato a studiare l'effetto dell'essere umano e le interazioni sociali sul comportamento e la fisiologia durante un esame veterinario di routine.

In primo luogo, è stato valutato l'impatto di un esame veterinario standardizzato su indicatori comportamentali e fisiologici di stress nei cani.

I parametri fisiologici misurati sono: temperatura rettale, temperatura della regione oculare, frequenza cardiaca e cortisolo salivare.

La frequenza cardiaca rappresenta un parametro facilmente accessibile da rilevare come misura fisiologica.

La temperatura dell'area dell'occhio è stata rilevata utilizzando una termocamera. La temperatura della regione oculare viene spesso utilizzata per rilevare una risposta allo stress. La termografia ad infrarossi (IRT) è un metodo di imaging rapido e senza contatto. Essa infatti, misurando la temperatura superficiale e rilevando la radiazione elettromagnetica, registra la regione infrarossa dello spettro elettromagnetico, emesso da tutti gli oggetti con una temperatura superiore allo zero assoluto. Questo è un metodo utile per misurare indirettamente i cambiamenti nel flusso sanguigno rilevando piccole differenze di temperatura superficiale, correlate a fattori di stress fisiologici e psicologici in fase

di stress acuto e cronico. La temperatura della regione oculare viene spesso utilizzata per rilevare una risposta allo stress.

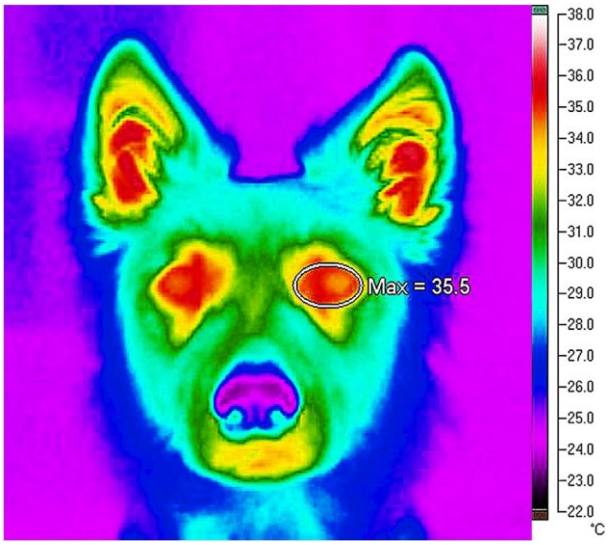

Figura 8 *Immagine del volto di un Border Collie ripresa dalla termocamera a infrarossi. Massima temperatura della superficie oculare (°C) visualizzata dalla regione di interesse: l'area ovale tracciata intorno alla regione della superficie anteriore dell'occhio sinistro.* - immagine riportata dall'articolo di Csoltovaa E. et al., 2017 che si sta esaminando in questo paragrafo -

La rilevazione della temperatura rettale è importante perché l'aumento della temperatura corporea interna a causa dello stress indotto porta a ipertermia. La temperatura rettale sembra essere il metodo più preciso per misurare la temperatura corporea interna (sia nell'uomo che negli animali).

Il test del livello di cortisolo salivare è diventato un metodo consolidato per studiare lo stress sia psicologico che fisico per monitorare il benessere nelle specie canine. A causa della pronunciata attivazione dell'asse HPA, il cortisolo salivare si correla bene con i valori del cortisolo plasmatico.

I risultati di questo studio dicono che:

- la frequenza cardiaca ha un aumento significativo durante la visita, e nel periodo post-visita rimane comunque a livelli elevati;
- la temperatura della regione oculare aumenta durante la visita, a causa di una maggiore irrorazione sanguigna che permette movimenti più rapidi per prepararsi all'eventuale attivazione della risposta di paura-attacco-fuga;
- il cortisolo salivare non ha denotato variazioni significative.

Da qui si evince che condizioni imprevedibili e incontrollabili durante l'esaminazione veterinaria possono portare a reazioni comportamentali e fisiologiche di stress (nei cani, nei gatti e nei bovini da latte). È stato documentato in bibliografia che il 78,5% dei cani ha mostrato comportamenti paurosi durante un esame clinico veterinario. Pur riconoscendo e identificando segni di stress nei cani è bene ricordare che una corretta gestione dello stress è fondamentale per garantire la sicurezza del personale veterinario e per una più facile manipolazione dell'animale durante l'esame.
L'attivazione del sistema nervoso simpatico e la stimolazione dell'asse HPA possono influenzare i parametri fisiologici di base come temperatura, frequenza cardiaca, pressione sanguigna, respirazione, livello di glucosio ed ematocrito.

È stato dimostrato che la sola stimolazione tattile da parte del proprietario è sufficiente per ridurre la risposta cardiovascolare e i livelli di cortisolo legati allo stress durante la visita. Mentre si accarezzano e gli si parla aumentano i livelli di ossitocina nei cani. Inoltre, le interazioni di affiliazione sotto forma di carezze, parole dolci, giochi e momenti di addestramento all'obbedienza sono utili a ridurre le risposte allo stress fisiologico e comportamentale sia a breve che a lungo termine.

L'articolo si conclude affermando che le visite veterinarie progettate hanno suscitato comportamenti acuti e fisiologici come risposte allo stress nei cani esaminati. Inoltre, hanno dimostrato, per la prima volta, il potenziale effetto benefico dell'interazione proprietario-cane sul benessere dell'animale durante la manipolazione veterinaria.

Suggeriscono che la ricerca futura potrebbe aiutare ulteriormente a comprendere i meccanismi associati alla riduzione dello stress nei cani in contesti simili; infatti, l'attivazione delle risposte allo stress aumentano la probabilità di diagnosi mediche errate. (Csoltovaa E. et al., 2017)

SECONDA PARTE

Risposte comportamentali nel cane allo stress e alla paura

CAPITOLO 5

COMPORTAMENTI CAUSATI DA STRESS E PAURA NEL CANE

I cani hanno assunto negli ultimi decenni un ruolo chiave nelle dinamiche affettive e relazionali all'interno dell'ambiente "famiglia" che li ospita.

La visita veterinaria, per quanto necessaria per la salute dei cani, spesso è fonte di paura, ansia e distress per l'animale. Per questo motivo, la ricerca in ambito di medicina comportamentale si pone come duplice obiettivo quello di alleviare e risolvere i disturbi del comportamento canino e quindi anche di migliorarne il suo benessere, riducendo il rischio di abbandono del cane.

Molte disfunzioni comportamentali negli animali da compagnia, e quindi nel cane, sono espressione di un'ansia patologica.

Le risposte comportamentali e fisiologiche che accompagnano l'ansia preparano un individuo a reagire in modo appropriato, ad esempio mostrando atteggiamenti difensivi oppure offensivi adeguati in relazione al contesto: l'ansia consente ad un individuo di sfuggire al pericolo e di evitarlo in futuro, ovvero di adattarsi alle sfide ambientali. Se le risposte ansiose sono inadeguate, la capacità dell'individuo di adattarsi a queste condizioni sarà sostanzialmente compromessa.

Emerge che l'ansia non è un'emozione con valenza negativa, ma a volte dall'utile valore adattativo. Può diventare un problema, però, in seguito all'incapacità del cane di controllare le sue reazioni di fronte a determinati stimoli, sfociando in una vera e propria patologia. Nel cane (così come negli altri animali) diventa patologica quando si protrae e cresce a livello endogeno senza che ci siano condizioni ambientali

che lo giustificano, diventando, così, incontrollabile. L'ansia patologica, dunque, è un'emozione disfunzionale e avversiva persistente, incontrollabile, eccessiva, inappropriata e generalizzata, che innesca risposte fisiologiche e comportamentali prive di valore adattivo.

Si ritiene che, nel cane, molti disturbi organici e comportamentali siano causati o direttamente correlati alla presenza di un'ansia eccessiva: questa è responsabile della comparsa di sintomi somatici come aumento della frequenza respiratoria e cardiaca, alterazioni vasomotorie, tremori o paralisi, aumento della salivazione, disturbi gastrointestinali. In generale, si accetta l'idea che la maggior parte dei problemi comportamentali abbiano un legame con l'ansia. (Zuccolo D., a.a.2020/2021)

5.1 *Correlati comportamentali di distress nel cane*

Le reazioni fisiologiche ai fattori di stress sono spesso accompagnate da manifestazioni comportamentali. Anche se c'è un'alta variabilità tra individui nella correlazione stress-comportamento, generalmente si può affermare che quando un cane si sente a disagio ed è sotto stress si notano i seguenti segnali:

- ✓ aumenta l'attività dell'apparato locomotore;
- ✓ aumenta la frequenza respiratoria, portando il cane ad ansimare;
- ✓ sbadigli frequenti (generalmente usati dal cane come mezzo per segnalare il proprio disagio);
- ✓ leccarsi le labbra (azione denominata in gergo tecnico comportamentale "licking");
- ✓ tremori;
- ✓ vocalizzazioni;
- ✓ posture particolari molto comunicative (muscoli tesi, sguardo preoccupato, occhi molto mobili per captare ogni minimo segnale dall'ambiente circostante, il cane non si siede/sdraia in maniera comoda, etc.). (Csoltova E. et al., 2017)

I problemi comportamentali nei cani hanno attirato, negli ultimi anni decenni, una maggiore attenzione.

Lo stress dovuto alla paura può essere espresso in diversi modi nel cane. (Hydbring-Sandberg E., 2004)

Dal punto di vista comportamentale, i segni di paura più comunemente osservati nei cani sono l'evitare fisicamente la fonte di stress, la fuga, l'immobilità e atteggiamenti di aggressività (Scott & Fuller 1965, Fo 1978, King et al. 2003).

Paura e ansia sono problemi innescati da vari tipi di fattori di stress (ad es. rumori, visite veterinarie o stimoli ambientali), con conseguente insorgenza di condizioni di stress acuto, cioè che dura un solo

giorno, oppure stress cronico, il quale si protrae per più giorni (Beerda et al., 1999; Korpivaara et al., 2017; Riemer et al., 2021).

5.1.1 *Comportamenti di stress nel cane durante la visita veterinaria*

Un importante studio di Kartashova I. A. et al., 2021 ha rilevato che lo stress ha un impatto significativo sulla salute e sul benessere dei cani e può compromettere seriamente la qualità della vita quotidiana, la riuscita di procedure cliniche veterinarie e le routine dei rifugi.

La questione dello stress e dell'ansia attira molta attenzione non solo in contesto di vita quotidiana di un cane domestico, ma anche come fattore di complicazione agli appuntamenti nelle cliniche veterinarie e nei rifugi (Edwards et al.,2019a; Gunter et al., 2019; Lloyd, 2017; Mariti et al., 2015; Willen et al.,2018).

Per un'identificazione più accurata dello stress è molto importante fare affidamento non solo sui parametri fisiologici, ma anche tenere conto dei dettagli della vita quotidiana del cane, della sua età, di eventuali malattie e cure, esperienze passate di visite cliniche veterinarie, livello di attività fisica e anche il temperamento del proprietario, e altri fattori (Landsberg et al., 2011; Packer et al., 2019; Srithunyarat et al.,2017; Sundman et al., 2019).

Kartashova I. A. et al., 2021 hanno studiato varie scale di segni visivi di stress nei cani, le più identificative forme comuni di comportamento stressante in varie situazioni e concluso sul modo più affidabile per affrontare il problema del rilevamento dello stress e sul suo trattamento.

Studiando vari articoli si evince che a volte gli autori hanno diviso qualitativamente i segni di stress in tre categorie: "stress grave", "stress moderato" e "stress lieve" (Srithunyarat et al., 2017). Più spesso, gli specialisti prendono scale già pubblicate e le adattano sul proprio studio.

Il livello di stress in clinica per ogni cane è stato classificato in base all'analisi del suo comportamento in tre situazioni: ingresso in sala d'attesa, attesa passiva nell'area di sosta e durante la misurazione del peso (Hernander,2008).

L'indagine di Kartashova et al. (2021) ha rilevato che in sala d'attesa, secondo i proprietari, solo il 36,4% dei cani sembrava calmo, mentre la maggioranza mostrava segni di paura (24,4%), eccitazione (37,6%) e/o aggressività (3,4%); i segnali di calma erano muscoli rilassati, annusare il pavimento, sedersi/sdraiarsi comodamente, i segnali di paura erano principalmente occhi sbarrati, ansimare, voler fuggire verso l'uscita, l'eccitazione portava i cani a non avere autocontrollo sulle proprie emozioni, saltare sui proprietari e strattonare il guinzaglio, l'aggressività invece si manifestava in sala d'attesa

come ringhi continui e abbaiare contro gli altri animali presenti, indipendentemente dal loro sesso e stato d'animo del momento. (Kartashova I. A. et al., 2021)

Entrare in ambulatorio per la visita sembrava sgradevole per metà dei cani. Il 73,2% dei cani sembrava sentirsi a disagio sul tavolo durante la manipolazione veterinaria. I comportamenti maggiormente rilevati durante la visita sono i seguenti:

- provare a saltare dal tavolo (31,8%);
- tremori per la paura (16,8%);
- tenere la coda tra le gambe (18,0%);
- cercare di aggrapparsi ai loro proprietari (21,0%).

Quando avvicinato da un veterinario, la maggior parte dei cani (63,2%) si è dimostrata tesa, ma non aggressiva, l'11,2% era aggressivo (ringhio o denti scoperti) e solo il 25,6% non ha mostrato segni di disagio. (Kartashova et al., 2021)

La comunicazione con il cane prima dell'esame, l'incoraggiamento e l'attenzione del veterinario è stata positivamente associata alla calma del cane in sala d'attesa e sul lettino (Mariti et al., 2017).

5.1.2 *Valutazioni qualitative del comportamento nel cane*

Stubsjøen S. M. et al., 2020 hanno studiato le espressioni facciali nei cani utilizzando il Dog Facial Action Coding System, che è un sistema di codifica dell'espressione facciale su base anatomica che identifica le alterazioni facciali associate al movimento muscolare sottostante (Kaminski, Hynds, Morris & Waller, 2017).

Si è sviluppata una scala per valutare lo stress acuto nei cani utilizzando un elenco predefinito di espressioni (Holton, Reid, Scott, Pawson & Nolan, 2001).

La valutazione del comportamento qualitativo (QBA) è un metodo molto utilizzato ed importante per valutare le qualità espressive del comportamento canino. Si tratta di un approccio integrativo utilizzato per quantificare lo stile espressivo dei comportamenti degli animali (Wemelsfelder & Lawrence, 2001).

Il metodo QBA integra e riassume lo stile dinamico del cane e la sua interazione con l'ambiente utilizzando un elenco di descrittori qualitativi come rilassato, a disagio, socievole e depresso (Wemelsfelder & Lawrence, 2001).

Il QBA può essere applicato retrospettivamente, valutando gli animali tramite riprese video, o può essere utilizzato direttamente in campo (nel luogo di osservazione dell'animale, che può essere un giardino, un

rifugio, un ambulatorio veterinario..), mediante osservazioni dirette degli animali. (Stubsjøen S. M. et al., 2020)

Il QBA è più utile se integrato con altri indicatori di salute e benessere, per formare una valutazione completa del benessere (Wemelsfelder & Mullan, 2014).

5.2 *Le definizioni per descrivere il comportamento canino*

Stubsjøen S. M. et al., 2020 hanno stilato un elenco fisso dei termini comportamentali individuali e le loro definizioni scritte.

1. *CONTENTO*: soddisfatto, attività positiva (es. gioco, comportamenti di affiliazione), rilassato;

2. *A DISAGIO*: a disagio, depresso, può essere dolorante;

3. *GIOCOSO*: impegnato attivamente nel gioco, invitando gli altri a giocare, felice, può vocalizzare e saltare;

4. *DEPRESSO*: insensibile, non interessato/non disposto a interagire con il suo ambiente, rassegnato, sguardo vuoto, apatico, può soffrire;

5. *RILASSATO*: nessuna vocalizzazione, interessato all'ambiente circostante, non nervoso, può muoversi in modo rilassato o sdraiarsi, non depresso;

6. *IRREQUIETO*: impaziente, nervoso, si muove eccessivamente, può vocalizzare, può cercare attenzione, il gioco non è incluso;

7. *IN ALLERTA*: attento, desideroso, attivamente interessato;

8. *ANNOIATO:* inattivo, disinteressato, passivo;

9. *SOCIEVOLE*: cerca contatto/interazione, interazione amichevole e positiva con altri cani;

10. *NERVOSO*: incerto, timido, timoroso, può avere la coda infilata sotto l'addome, può vocalizzare;

11. *IN ATTESA*: in allerta, scodinzolando, può vocalizzare, concentrato, può essere irrequieto;

12. *ESITANTE*: riluttante, ritirato, vigile;

13. *FIDUCIOSO*: familiare, affettuoso, amichevole, cerca attenzioni;

14. *AGGRESSIVO*: può vocalizzare, mostra segni e atteggiamenti di aggressività difensiva o offensiva;

15. *ENERGICO*: attivo, può vocalizzare, insistente;

16. *FRUSTRATO*: comportamento conflittuale, a disagio, irritabile, stressato, può vocalizzare;

17. *CURIOSO*: interessato positivamente, vigile, esplorativo, attento;

18. *CALMO*: segnali calmanti (ad es. sbadigliare, leccarsi le labbra/naso, girare la testa dall'altra parte, girare il lato del corpo verso l'altro cane, coda in posizione bassa, orecchie indietro, annusare per terra);

19. *INDIFFERENTE*: non cerca contatto/interazione, non vocalizza, disinteressato, non depresso;

20. *STRESSATO*: nervoso, a disagio, può mostrare un comportamento ripetitivo (stereotipato).

5.3 *Conclusioni relative ai video ricavati per questo studio di tesi*

Come spiegato nella parte introduttiva del presente elaborato, per questa tesi sono stati girati dei brevi video per valutare il comportamento nei cani in situazioni potenzialmente stressanti. Gli otto video sono stati girati tutti nella medesima situazione: mentre l'animale si trovava all'interno della sala visita assieme al suo proprietario e al medico veterinario. Precisamente i video sono stati fatti appena il cane entrava in ambulatorio, mentre il proprietario e il medico parlavano tra loro per inquadrare il caso clinico.

5.3.1 *Breve analisi dei singoli video*

Dall'osservazione dei video è stato riscontrato che la maggior parte dei soggetti non evidenzia segni di forte stress o ansia.

I video sono disponibili su un canale youtube e consultabili al seguente link:

https://studio.youtube.com/channel/UC6M2xdzhxpY5JQeIaw5DlnQ/videos/upload?filter=%5B%5D&sort=%7B%22columnType%22%3A%22date%22%2C%22sortOrder%22%3A%22DESCENDING%22%7D

Video 1: il cane inizialmente osserva attentamente la sua proprietaria, poi annusa il pavimento ma sempre con un atteggiamento di attenzione all'ambiente circostante. Si può definire leggermente nervoso ed esitante.

Video 2: il cane ansima molto (non dipendeva dalla temperatura ambientale), si presenta disteso a terra con muscoli tesi e le unghie di tutti e quattro gli arti estroflesse. Si guarda molto attorno, guardando a volte anche il proprietario per capire cosa sarebbe successo. Verso la fine si mette in posizione seduta retraendo le unghie, segno che inizia a rilassarsi leggermente. Si definisce nel complesso a disagio, nervoso e leggermente stressato.

Video 3: questo cocker si mostra molto a suo agio, socievole, fiducioso e potenzialmente curioso più verso gli umani che lo circondano piuttosto che verso l'ambiente in cui si trova.

Video 4: il golden retriever si dimostra molto a disagio, assumendo una posizione rigida in piedi con la coda adesa al treno posteriore, il quale è leggermente tremante. Questo cane si sentiva molto a disagio ed esitante.

Video 5: il soggetto sembra essere molto attento a ciò che gli succede attorno, prendendo come punto di riferimento sicuro il suo padrone umano. Si può definire in allerta; alla fine del video si distende a terra in uno stato rilassato, ma non fiducioso, restando comunque vigile e vicino al suo padrone.

Video 6: la meticcia di questo video si dimostra a suo agio, per nulla esitante. Annusa anche il pavimento in maniera serena, arrivando anche ad annusare i piedi del medico veterinario nella stanza, denotando il suo essere fiduciosa, calma e rilassata.

Video 7: il setter inglese del video scodinzola, cerca una posizione comoda in cui sedersi, ma poi richiama l'attenzione del suo padrone trasmettendogli la sua intenzionalità andando verso l'uscita della stanza; permane per tutto il tempo molto vicino al suo padrone. Si potrebbe definire contento, ma osservando bene non sembra essere molto rilassato; piuttosto in attesa di uscire dal luogo in cui si trova.

Video 8: questa piccola meticcia annusa l'ambiente circostante da sdraiata, ma lo fa con un'espressione facciale che non denota rilassamento. Si direbbe leggermente a disagio e nervosa.

Di seguito una tabella costituita da **11 variabili**, cioè i comportamenti rilevati durante tutti gli **otto video** girati in sala visita dell'ambulatorio durante il periodo di tirocinio.

Per completare la tabella ciascun video è stato analizzato una prima volta per capire quali sono le variabili comportamentali specifiche. Poi si è analizzato successivamente in maniera più dettagliata per capire la durata di ogni singolo comportamento messo in atto dal cane in questione.

Non tutte le variabili sono presenti all'interno di ogni video; sono stati inseriti dei simboli per le variabili non presenti:

a) simbolo -- indica che il comportamento non viene attuato nel cane nel video;
b) simbolo **xx** indica che quella variabile non è pertinente per quel video (inserita soltanto nel *video 4* per la variabile "*mantenersi a meno di 15cm dal proprietario*", perché il cane in questione si trova sopra al tavolo della sala visita).

Variabile	***Video 1***	***Video 2***	***Video 3***	***Video 4***	***Video 5***	***Video 6***	***Video 7***	***Video 8***
Lunghezza totale video (sec)	19 sec	18 sec	11 sec	9 sec	96 sec	46 sec	58 sec	23 sec
Tempo con la coda adesa al posteriore (sec)	--	18 sec	--	9 sec	--	--	--	23 sec
Annusare l'ambiente (sec)	10 sec	--	--	--	--	8 sec	--	22 sec
Mantenersi a meno di 15cm dal proprietario (sec)	8 sec	18 sec	--	**xx**	96 sec	--	58 sec	--
Ansimare (sec)	--	16 sec	11 sec	9 sec	96 sec	--	58 sec	--
Cane seduto in maniera tranquilla (sec)	--	--	--	--	--	--	2 sec	--
Cane sdraiato in maniera tranquilla (sec)	--	--	--	--	7 sec	--	--	23sec
Mantenere i muscoli in tensione (sec)	--	9 sec	--	9 sec	--	--	--	20 sec
Richiamare l'attenzione del proprietario (sec)	--	--	--	--	--	--	9 sec	--
Tremore degli arti (sec)	--	7 sec	--	9 sec	--	--	--	--
Scodinzolare (sec)	--	--	11 sec	--	--	--	56 sec	--

CONCLUSIONI

La paura e l'ansia sono fonti di stress per il cane. Quando un animale è sottoposto ad una condizione stressogena (più o meno prolungata), si scatenano in modo automatico delle risposte fisiologiche e dei comportamenti che rientrano in etogrammi specie-specifici.

In questo studio sono state trattate le risposte fisiologiche nella prima parte e i vari comportamenti nella seconda parte. A livello fisiologico nell'organismo, grazie alla presenza del sistema limbico (il quale è responsabile del rilevamento delle informazioni dall'ambiente esterno per elaborare emozioni, pensieri e comportamenti), viene stimolato l'*ipotalamo*. Esso è una struttura molto importante del sistema nervoso ed ha un ruolo fondamentale nella risposta allo stress dell'organismo. L'ipotalamo attiva due meccanismi: l'asse sistema nervoso simpatico-midollare del surrene e l'asse ipotalamo-ipofisi-corticale del surrene (asse HPA).

Quando il cane si trova in situazioni stressanti (psicologicamente o fisicamente) il suo sistema nervoso simpatico prepara il suo organismo per poter reagire al meglio per la propria sopravvivenza. Si ha, infatti, una reazione di paura-attacco-fuga. Per avere energia prontamente utilizzabile per le cellule sollecitate, l'organismo ricorre a due vie: degradazione del glicogeno stoccato a livello epatico in glucosio, che andando in circolo aumenta la glicemia, e la lipomobilitazione, cioè la degradazione dei lipidi stoccati nel tessuto adiposo per l'ottenimento di energia, la quale comporta un innalzamento del livello ematico di acidi grassi. Questo avviene in risposta all'aumento nel sangue inizialmente di adrenalina (dall'attivazione del SNS) e successivamente di cortisolo (per attivazione dell'asse HPA).

A livello emotivo, nei cani lo stress si traduce in paura e ansia. Negli ultimi anni stanno aumentando gli studi scientifici su come monitorare lo stress attraverso dei parametri fisiologici (frequenza cardiaca, cortisolo salivare, temperatura rettale, etc.). Altrettanto importante però è saper osservare gli animali e capire cosa vogliono trasmettere con i loro comportamenti. Ad esempio, l'aggressività spesso è causata da paura, stress, ansia e cattive esperienze del passato. Per questo sono stati fatti degli studi da diversi veterinari, etologi e comportamentalisti al fine di stilare una lista di vocaboli, con la loro descrizione, per poter identificare i diversi pattern comportamentali dell'animale che si sta osservando. Dagli otto video esaminati in questa tesi, svolti su alcuni cani durante il loro ingresso in ambulatorio veterinario, si è notato che in alcuni soggetti la paura era uno stato iniziale, seguita poi da un progressivo rilassamento; per cui si notava la rigidità muscolare iniziale del corpo dell'animale, il movimento degli occhi e

l'atteggiamento a indicare disagio. In altri cani, invece, questi comportamenti erano praticamente inesistenti, anzi si dimostravano calmi e rilassati, annusavano l'ambiente circostante e le persone presenti

BIBLIOGRAFIA

- Csoltova E., Martineau M., Boissy A., Gilbert C. *"Behavioral and physiological reactions in dogs to a veterinary examination: Owner-dog interactions improve canine well-being"* - Physiology & Behavior, 177, 270–281 (2017)

- Helsly M., Priymenko N., Girault C., Duranton C., Gaunet F. "Dog behaviours in veterinary consultations: Part II. The relationship between the behaviours of dogs and their owners" - The Veterinary Journal, 281, 105789 (2022)

- Hydbring-Sandberg E., von Walter L.W., Höglund K., Svartberg K., Swenson L., e Forkman B. "*Physiological reactions to fear provocation in dogs*." - Journal of Endocrinology, 180, 439-448 (2004)

- Kartashova I.A., Ganina K.K., Karelina E.A., Tarasov S.A. *"How to evaluate and manage stress in dogs – A guide for veterinary specialist"* - Applied Animal Behaviour Science, 243, 105458 (2021)

- Kooriyama T., Ogata N. *"Salivary stress markers in dogs: Potential markers of acute stress"* - Research in Veterinary Science, 141, 48–55 (2021)

- Rohleder N. *"Stress and inflammation – The need to address the gap in the transition between acute and chronic stress effects"* - Psychoneuroendocrinology, 105, 164–171 (2019)

- Sjaastad O.V., Sand O., Hove K. Testo universitario *"Fisiologia degli animali domestici"* - edizione italiana a cura di Carlo Tamanini - [Casa Editrice Ambrosiana] (2013)

- Smith M.S., Vale W.W. *"The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress*" - Dialogues in Clinical Neuroscience - Vol 8 . No. 4 . (2006)

- Stubsjøena S.M., Moeb R.O., Brulandb K., Lienc T., Murib K. *"Reliability of observer ratings: Qualitative behaviour assessments of shelter dogs using a fixed list of descriptors"* - Veterinary and Animal Science, 10, 100145 (2020)

- Zuccolo D. Tesi di laurea magistrale a ciclo unico in Medicina Veterinaria *"Valutazione del tratto ansioso nel cane domestico utilizzando un test di pregiudizio cognitivo"* - Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie dell'Università di Parma (a.a. 2020/2021)

SITOGRAFIA

- www.chimica-online.it
- www.medicinaonline.co
- www.psychscenehub.com
- www.repository.unipr.it/bitstream/1889/4650/1/TESI%20DAVIDE%20ZUCCOLO.pdf
- www.skuola.net

Ringraziamenti

Ringrazio la *prof.ssa Elisa Giaretta*, relatrice di questa tesi di laurea, per la grande passione che ha saputo trasmettermi per la sua materia durante le ore di lezione e per l'infinita disponibilità sempre dimostratami. La ringrazio per il suo aiuto e i suoi consigli in questi anni e durante il periodo di stesura di questo elaborato. Senza di Lei questo lavoro non avrebbe preso vita!

Ringrazio anche la *prof.ssa Simona Normando*, correlatrice di questa tesi, la quale ha accettato di offrirmi il suo aiuto e le sue competenze professionali per la stesura della seconda parte della tesi.

Un grande ringraziamento a tutta la mia *famiglia* che, con il loro dolce ed instancabile appoggio, sia morale che economico, mi hanno permesso di arrivare fin qui oggi, contribuendo alla mia formazione personale.

Grazie *mamma*, al tuo costante sostegno, ai tuoi insegnamenti e alla tua positività, senza i quali oggi non sarei ciò che sono.

Grazie *papà*, per avermi trasmesso un profondo amore per i cani, e gli animali in generale, e per l'aver saputo stimolare il mio essere rispettosa della natura e dell'ambiente.

Un grazie speciale a *Giorgio*, una persona importante che ha imparato a conoscermi, standomi sempre accanto, e che ha saputo incoraggiarmi affinchè io dimostrassi sempre la parte migliore di me.

Grazie anche ai miei *amici* di sempre, il mio porto sicuro dove rifugiarmi quando il mare è in tempesta: grazie per volermi bene per quella che sono e per esserci sempre stati quando ne avevo bisogno. Il raggiungimento di questo traguardo è un altro momento che ho il piacere di condividere con voi.

Ho il dovere di citare qui anche tutti i miei *compagni di vita pelosi a quattro zampe*: i miei cani e i miei cavalli. I cani che ci sono oggi, quelli che ci sono stati, quelli che ci saranno. Loro mi hanno dato l'ispirazione per continuare a sognare; un musetto peloso da accarezzare e uno sguardo di conforto senza il bisogno di parlare.

Per ultimo, ma non meno importante, ringrazio anche tutto lo *staff della Clinica veterinaria Bertollo* di Camisano vicentino per avermi dato la possibilità di svolgere il mio tirocinio e il lavoro di tesi in un luogo interessante e dinamico, che mi ha permesso di mettermi in gioco e fare un'esperienza che sarà preziosa per il mio futuro.