

UFRRJ
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

DISSERTAÇÃO:

Tratamento crônico por acupuntura nas respostas ao estresse sonoro agudo em cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício

Giulia Henrique Coelho

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

**Tratamento crônico por acupuntura nas respostas ao estresse sonoro
agudo em cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão
e/ou fogos de artifício**

GIULIA HENRIQUE COELHO

Sob a Orientação da Professora
Magda Alves de Medeiros

Seropédica, RJ

Maio de 2017



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

**TRATAMENTO CRÔNICO POR ACUPUNTURA NAS RESPOSTAS AO
ESTRESSE SONORO AGUDO EM CÃES DE COMPANHIA COM HISTÓRICO
DE FOBIA A SONS DE TROVÃO E/OU FOGOS DE ARTIFÍCIO**

GIULIA HENRIQUE COELHO

Sob a Orientação da Professora

Magda Alves de Medeiros

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

Maio de 2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C672 t Coelho, Giulia Henrique, 1988-
Tratamento crônico por acupuntura nas respostas ao estresse sonoro agudo em cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício / Giulia Henrique Coelho. - 2017.
59 f.

Orientadora: Magda Alves de Medeiros.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, 2017.

1. acupuntura. 2. estresse sonoro. 3. cães de companhia. 4. fobia a sons. 5. trovão e/ou fogos de artifício. I. de Medeiros, Magda Alves, 1973-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

GIULIA HENRIQUE COELHO MOURA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 09/05/2017



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



Flavya Mendes de Almeida (Ph. D) UFF



Fábio Fagundes da Rocha (Ph. D) UFRRJ

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho ao cão Simba (*in memória*), Ninha, Shirra, Kate, Duda e aos animais que me acompanharam desde a infância, me encantando no dia a dia com o carinho, companheirismo e inteligência, sendo uns dos grandes responsáveis por minha escolha em cursar Medicina Veterinária.

Dedico, também, a meus pais, meus maiores exemplos e incentivadores.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus pais queridos, Rosângela e Tulio, que me apoiaram, sempre com carinho, e palavras de força. A meus avós que mesmo em meus momentos de ausência, foram compreensivos, sempre me incentivando, para que eu desse conta de tudo.

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

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

Agradeço à Carla por me ajudar no experimento, sempre com muita dedicação.

Agradeço às meninas do grupo de estudo em Medicina Alternativa, Tati, Julia, Marimar que fizeram me sentir parte de um grupo de trabalho.

Agradeço à professora Heloísa Justen, pelo imenso apoio e acolhimento em meu estágio em sua Clínica Gatos e Gatos, e a oportunidade que me proporcionou em me levar a UFRRJ me apresentando Magda Medeiros, minha orientadora.

Agradeço à banca pela disponibilidade em contribuir com nosso trabalho.

Agradeço às agências de fomento CAPES e FAPERJ.

E, finalmente, agradeço a minha orientadora Magda, por esse projeto e por ter acreditado que eu era capaz e que chegaríamos até aqui.

RESUMO

COELHO, Giulia Henrique. **Tratamento crônico por acupuntura nas respostas ao estresse sonoro agudo em cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício.** 2017. 53p. Instituto de Veterinária, Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2016.

A exposição a uma variedade de situações desafiadoras que geram estresse e medo faz parte da vida de todos os animais. A persistência destas situações desafiadoras ou o exagero das respostas ao estresse afetam negativamente a saúde e o bem estar e podem levar a doenças sistêmicas e psicossomáticas. Vários estímulos podem ser considerados indutores de estresse em cães, no entanto, os cães são particularmente sensíveis a estímulos sonoros. Alguns animais apresentam quadros de fobia a sons de trovão e fogos de artifício, que se caracterizam por um medo acentuado, persistente e excessivo. A exposição a um estímulo fóbico provoca uma resposta comportamental imediata associada à excitação autonômica e neuroendócrina. A acupuntura tem sido utilizada amplamente em casos de distúrbios decorrentes de estresse em humanos e tem efeito anti-estresse em modelos animais. Estudos preliminares demonstraram que uma única sessão de acupuntura pode modular as respostas comportamentais e a atividade autonômica de cães de laboratório submetidos ao modelo experimental do estresse sonoro agudo. O presente estudo propõe avaliar se o tratamento crônico por acupuntura pode alterar as reações comportamentais induzidas por um modelo de estresse sonoro agudo em cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício. Dezenove cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício (diversas raças, de porte médio, de 1 a 6 anos de idade, de 8 a 60 Kg, saudáveis) foram submetidos ao modelo de estresse sonoro agudo que consistiu de um estímulo sonoro (som de fogos de artifício) com intensidade de 103-104 dB e duração de 2,5 minutos. Antes, durante e depois do estímulo sonoro foram analisados 20 parâmetros comportamentais. Os animais foram randomicamente divididos em dois grupos: controle e acupuntura. Os animais do grupo acupuntura receberam sessões semanais de acupuntura nos pontos Yintang, VG20, E36, PC6, B52e C7; enquanto o grupo controle não recebeu nenhum tratamento. Após 8 semanas, os animais foram submetidos novamente ao modelo do estresse sonoro. Além disso, os tutores dos animais foram questionados se houve alguma melhora do comportamento dos cães quando estes foram sujeitos a situações naturais de trovão e fogos de artifício. O modelo de estresse sonoro agudo promoveu um aumento significativo nas repostas de alerta/atenção, caminhar/correr, esconder-se, fugir do ambiente, interação com as pessoas, levanta/senta/deita, procurar som, abaixamento e ou cauda entre as pernas, congelamento e sobressalto. O tratamento por acupuntura foi capaz de reduzir significativamente a ocorrência das respostas comportamentais induzidas pelo modelo do estresse sonoro de caminhar/correr, fugir do ambiente e postura arqueada. O tratamento por acupuntura também produziu uma melhora significativa das reações de medo dos cães quando estes foram expostos a situações naturais de fogos/trovões segundo a percepção dos tutores. Nossos dados sugerem que sessões semanais de acupuntura podem reduzir as repostas comportamentais de medo em cães com histórico de medo exagerado a sons e reforçam o uso da acupuntura no tratamento deste distúrbio em cães. Palavras-chave: estresse, cães de companhia, fobia, acupuntura, som de trovão, fogos de artifício.

ABSTRACT

COELHO, Giulia Henrique. **Chronic treatment by acupuncture in the responses induced by acute acoustic stress in companion dogs with history of phobia of sounds of thunder and/or fireworks.** 2017. p. 53 Thesis (MA in Pathology and Clinical Sciences). Institute of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Experiencing a variety of challenging situations that generate stress and fear is part of the lives of all animals. The persistence of these challenging situations or the exaggeration of stress responses can negatively affect health and well-being and can lead to systemic and psychosomatic diseases. Several stimuli may be considered as stress inducers in dogs, however, they are particularly sensitive to sound stimuli. Some animals exhibit phobia of sounds of thunder and fireworks, which are characterized by a marked, persistent and excessive fear. Exposure to a phobic stimulus causes an immediate behavioral response associated with autonomic and neuroendocrine excitation. Acupuncture has been used extensively in cases of stress disorders in humans and has anti-stress effect in animal models. Preliminary studies have demonstrated that a single acupuncture session can modulate the behavioral responses and autonomic activity of laboratory dogs submitted to the experimental model of sound stress. The present study proposes to evaluate whether chronic acupuncture treatment can alter the behavioral reactions induced by an acute sound stress model in companion dogs with a history of phobia of thunder / fireworks sounds. Nineteen companion dogs with a history of phobia of thunder / fireworks (several breeds, medium-sized, from 1 to 6 years of age, from 8 to 20 kg, healthy) were submitted to the model of the acute sound stimulus that consisted of a sound stimulus (sound of fireworks) with intensity of 103-104 dB and duration of 2.5 minutes. Before, during and after the sound stimulus, 20 behavioral parameters were analyzed. The animals were randomly divided into two groups: control and acupuncture. The animals of the acupuncture group received weekly acupuncture sessions at the Yintang, VG20, E36 (bilateral), PC6 (bilateral), B52 (bilateral) and C7 (bilateral) points, while the control group received no treatment. After 8 weeks, the animals were again submitted to the sound stress model. In addition, the tutors of the animals were asked if there was any improvement in the behavior of the dogs when they were subjected to natural thunder / fireworks situations. The sound stress model promoted a significant increase in alert / attention responses, walking / running, hiding, getting away from the environment, interacting with people, getting up / sitting down, looking for sound, lowering or tail between the legs, freezing and startle. Acupuncture treatment was able to significantly reduce the occurrence of behavioral responses induced by the sound stress model: walking / running, escape from the environment and arched posture. Acupuncture treatment also produced a significant improvement in the fear reactions of dogs when they are exposed to natural fire / thunder situations according to the tutors' perception. Our data suggest that weekly acupuncture sessions can reduce the behavioral responses of fear in dogs with a history of exaggerated fear of sounds and reinforce the use of acupuncture in the treatment of this disorder in dogs.

Keywords: stress, companion dogs, phobia, acupuncture, sound of thunder, fireworks.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1: Indicações e localização dos pontos de acupuntura:.....	33
Tabela 2: Descrição dos 20 Parâmetros Comportamentais Analisados.....	34
Tabela 3: Perfil dos tutores dos animais.....	39
Tabela 4: Origem dos cães que participaram do experimento.....	40
Tabela 5: Raça e sexo dos cães que participaram do experimento.....	40
Tabela 6: Evento desencadeador do medo exagerado dos cães que participaram do experimento.....	41
Tabela 7: Qualidade do relacionamento entre tutores e seus respectivos animais e os transtornos comportamentais concomitantes ao medo de fogos/trovão.....	41
Tabela 8: Resultados da análise estatística do efeito do tratamento por acupuntura nas respostas comportamentais induzidas pelo estímulo sonoro.....	44
Tabela 9: Grupos ACUP e CTL e a melhora durante o tratamento.....	48
Quadro 1: Quadro fornecido pelo programa SPSS mostrando o efeito de cada fator analisado.....	43
Figura 1: Pele mostrando feixe neurovascular abaixo de um acuponto.....	15
Figura 2: Foto panorâmica do Centro Cirúrgico de Pesquisa e Extensão do Instituto de Veterinária da UFRRJ.....	25
Figura 3: Cães de companhia com histórico de fobia, de diversas raças, que participaram do experimento.....	26
Figura 4: Protocolo experimental geral.....	27
Figura 5: Esquema do protocolo experimental no dia do estresse.....	29
Figura 6: Localização dos pontos de acupuntura utilizados no tratamento de 10 cães com histórico de fobia a som de trovão,.....	31
Figura 7: Cão durante uma sessão de acupuntura nos pontos C7 e PC6.....	31
Figura 8: Cão durante uma sessão de acupuntura nos pontos Yintang, VG20, B52, E36.....	32
Figura 9: Figura ilustrando diferentes comportamentos no momento do experimento.....	35
Figura 10: Printscreen dos questionários aplicados aos tutores, antes de após o tratamento de acupuntura.....	36

Figura 12: Queixa principal e concomitante ao medo de sons variados.....	42
Figura 13: Cinco parâmetros comportamentais.....	45
Figura 14: Nove parâmetros comportamentais	47
Figura 15: Seis parâmetros comportamentais	47
Figura 16: Efeito da acupuntura nas reações de medo de cães com histórico de medo exagerado a sons de trovão/fogos de artifício segundo a percepção dos tutores durante (A) e após o tratamento (B).	48

LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACTH: Hormônio adrenocorticotrófico;
AVP: Vasopressina;
ACUP: grupo tratado por Acupuntura;
CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais;
CRH: Hormônio liberador de corticotropina;
CTL: grupo controle;
dB: decibéis;
GR: Receptor de Glicocorticóides;
HF: Frequência alta;
HHA: Eixo Hipotálamo Hipófise Adrenal;
LF: Frequência baixa
MR: Receptor de Mineralocorticóide;
PVN: Núcleo Paraventricular do Hipotálamo;
RIE: Radio imuno ensaio;
SAM: Sistema Simpato-adreno-medular;
SNA: Sistema Nervoso Autônomo;
SNC: Sistema Nervoso Central;
SNP: Sistema Nervoso Parassimpático;
SNS: Sistema Nervoso Simpático;
SRD: Sem raça definida
UFRRJ: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro;
VIC: Variabilidade do Intervalo Cardíaco.
MTC: Medicina Tradicional Chinesa

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	v
AGRADECIMENTOS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE TABELAS E FIGURAS	x
LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS	xii
SUMÁRIO	1
INTRODUÇÃO	3
1.1 OBJETIVOS	5
<i> Gerais:</i>	5
<i> Específicos:</i>	5
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1 <i>Estresse</i>	6
2.2 <i>Estímulo sonoro e alterações comportamentais em cães</i>	8
2.3 <i>Fobia em cães</i>	10
2.4 <i>Acupuntura, Terapia Integrante da Medicina Tradicional Chinesa</i>	13
2.5 <i>Mecanismos e local de ação da acupuntura</i>	15
2.6 <i>Acupuntura na redução das respostas de estresse</i>	19
3 MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1 <i>Local de execução do trabalho experimental</i>	23
3.2 <i>Animais</i>	23
3.3 <i>Protocolo experimental</i>	24
3.4 <i>Modelo de estresse sonoro agudo</i>	25
3.5 <i>Estímulo sonoro</i>	26
3.6 <i>Tratamentos:</i>	27
3.7 <i>Análise Comportamental durante o modelo de estresse sonoro agudo</i>	30
3.8 <i>Percepção dos tutores quanto a melhora dos sinais de medo durante e após o tratamento</i>	33
3.10 <i>Estatística</i>	33
	1

4 RESULTADOS	34
4.1 <i>Análise das reações comportamentais antes e após o estímulo sonoro</i>	34
4.2 <i>Avaliação do tratamento com acupuntura segundo os tutores, em relação a possível melhora das respostas de medo em cães quando expostos a situações reais de fogos de artifícios.</i>	38
5 DISCUSSÃO	40
6 CONCLUSÕES	43
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
ANEXO 1: Termo de Consentimento	50
ANEXO 2: Ficha de avaliação de Fobia	52
ANEXO 3: Ficha geral de cadastro	54
ANEXO 4: Ficha geral de cadastro	55
ANEXO 5: Ficha de Protocolo Experimental	59

INTRODUÇÃO

Ao longo da vida todos os animais são desafiados por situações de estresse, e a resposta adequada a estas situações é essencial para a sobrevivência. A exposição de animais e humanos a uma variedade de situações desafiadoras pode ativar um conjunto de respostas orgânicas adaptativas que chamamos de respostas de estresse. A regulação inapropriada das respostas de estresse tem sido implicada na patogênese de doenças sistêmicas, em distúrbios afetivos e em doenças neurodegenerativas.

Vários estímulos podem ser considerados indutores de estresse em cães, como o transporte, exposição a sons altos como fogos de artifício, trovões e tiros de armas de fogo, a restrição de espaço e o isolamento social. Neste sentido, os cães são particularmente sensíveis a estímulos sonoros. O sistema auditivo é capaz de reconhecer situações de perigo. Assim sons do ambiente provocam emoções e ações através da conexão direta do sistema auditivo com estruturas neurais relacionadas com a “luta ou fuga”. Sons ameaçadores de qualquer natureza representam um perigo em potencial, e podem representar uma conotação negativa para os indivíduos dessa espécie. Desta forma, o estímulo sonoro representa uma opção natural para o estudo da reatividade ao estresse em cães e tem uma grande vantagem em relação a outros modelos porque é pouco invasivo e pode ser utilizado em cães de companhia e cães de laboratório.

Alguns animais apresentam quadros de fobia a sons de trovão e fogos de artifício, que se caracterizam por um medo acentuado, persistente e excessivo. A exposição a um estímulo fóbico provoca uma resposta imediata de comportamento fisiológico concomitante a sinais de excitação autonômica e estresse agudo. Recentemente, têm sido estudadas alternativas terapêuticas para diminuir as reações deletérias ao organismo ocasionadas pelas respostas aos estímulos estressores. Isso ocorre, porque os medicamentos convencionalmente utilizados para distúrbios decorrentes do estresse podem causar dependência e produzir diversos efeitos colaterais.

A acupuntura é uma das terapias da Medicina Tradicional Chinesa (MTC) que pode ser utilizada para o tratamento e prevenção de distúrbios fisiológicos e comportamentais induzidos pelo estresse. Já que tem sido utilizada amplamente em distúrbios decorrentes de estresse em humanos e apresentado efeito anti-estresse em modelos animais. Estudos preliminares demonstraram que uma única sessão de acupuntura foi capaz de modular as respostas comportamentais e as alterações na atividade autonômica em cães de laboratório submetidos ao modelo de estresse sonoro

agudo (som de trovão). Desta forma o estudo do efeito de um tratamento crônico por acupuntura (8 semanas) nas respostas comportamentais de cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício foi realizado submetendo os cães ao modelo de estresse sonoro agudo e, avaliando a percepção dos tutores quanto ao efeito do tratamento diante de situações reais de trovão e fogos de artifício no ambiente domiciliar a partir de suas respostas ao questionário online.

1.1 OBJETIVOS

Gerais:

Verificar o efeito da estimulação semanal por acupuntura dos pontos Yintang, VG20, E36, PC6, B52 e C7 sobre as respostas comportamentais ao estresse sonoro agudo em cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício.

Específicos:

Verificar se tratamento crônico por acupuntura (1 sessão semanal, durante 8 semanas nos pontos Yintang, VG20, E36, PC6, B52 e C7) pode alterar a resposta comportamental de cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão/fogos de artifício submetidos ao modelo experimental de estresse sonoro agudo.

Verificar se tratamento crônico por acupuntura altera as respostas comportamentais de cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão/fogos de artifício em situações reais de trovão/fogos de artifício em suas residências, através de questionários respondidos pelos tutores.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Estresse

A manutenção do estado de equilíbrio de um organismo, a homeostase, é essencial para a vida, é constantemente desafiada por forças internas ou externas, e é nesse desafio que surge situação denominada estresse.

Walter Canon, em 1929 denominou o equilíbrio do meio interno como homeostase. Foi o primeiro a reconhecer que os agentes desafiadores da homeostase poderiam ser tanto físicos, como emocionais e elaborou o conceito de “reação de emergência”, hoje conhecido como resposta de “luta ou fuga” (*fight or flight*), quando um indivíduo é submetido a um desafio de magnitude suficiente para ativar a liberação de adrenalina da medula da adrenal e de noradrenalina de terminais nervosos simpáticos (FRANCI, 2005).

Entre 1946 e 1976, o fisiologista canadense Hans Selye definiu como estresse, a situação gerada pelo desafio ao qual um organismo estaria submetido. E, criou o termo estressor, para designar o agente causador e manteve o termo estresse, para designar a condição gerada pelo estímulo desafiador (FRANCI, 2005).

E segundo Broom, (1993), o estresse é o conjunto de reações do organismo a agressões de qualquer natureza (física, psíquica, infecciosa e outras) capazes de perturbar a homeostase do organismo. Sendo este um dos principais fatores que interferem no bem-estar animal.

A resposta a um estímulo estressor é fundamental para a sobrevivência, pois em condições de estresse, o organismo reage por meio da ativação e desativação de várias funções, para recuperar e manter a homeostase. No entanto, essas respostas podem ser insuficientes para restabelecer ou manter a homeostase, ou podem ser exageradas, representando risco de doenças.

A reação de estresse maximiza o gasto de energia que ajuda a preparar o corpo para atender a uma situação ameaçadora, mobilizando um grande esforço a fim de lidar com o desafio. No entanto, enquanto uma certa quantidade de estresse é necessária para a sobrevivência, o estresse prolongado pode afetar negativamente a saúde (BERNARD; KRUPAT, 1994).

Os estímulos estressores geram respostas que variam com a duração e intensidade e, ainda com a predisposição genética e experiências prévias do indivíduo. Estes estímulos de estresse prolongado podem levar a distúrbios fisiológicos incluindo os

sistemas imunológico, cardiovascular, função metabólica e comportamental, levando a má adaptação da resposta ao estresse (MARQUES et al., 2010).

Os estímulos causadores de estresse podem ser classificados em físicos e/ou químicos, psicológicos, sociais, e os que alteram a homeostase vegetativa, como em casos de exercício intenso e hemorragias, e quanto à duração, podem ser classificados como agudos ou crônicos (PACÁK & PALKOVITS, 2001).

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

As situações de estresse, ativam dois eixos neuroendócrinos: o simpato-adrenomedular (SAM) que promove aumento da secreção de catecolaminas estimulando excitação rápida do sistema cardiovascular, levando a um aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) que leva a um aumento na produção de cortisol e consequente mobilização de energia (ULRICH-LAI; HERMAN, 2009).

As respostas primárias ativadas pelo SAM vão ocorrer quando o organismo se prepara rapidamente para o ataque ou defesa, e a adrenalina é secretada pela adrenal, aumentando aporte sanguíneo nos músculos, elevando o débito cardíaco promovendo a redistribuição do sangue, aumentando a oferta de oxigênio e nutrientes para as estruturas vitais. Há elevação da pressão arterial, os bronquíolos se dilatam, a respiração torna-se mais rápida e profunda para remoção do excesso de dióxido de carbono. Em detrimento, ocorre a diminuição de funções como digestão e liberação de secreções corporais, além de haver uma liberação de qualquer excesso pela bexiga e intestino. Com a liberação de endorfinas, a sensibilidade à dor diminui e a taxa metabólica aumenta. As pupilas se dilatam e os sentidos (tato, visão e audição) ficam em estado de alerta (ROGERSON, 1997).

Estressores, como ruído, imobilização, treinamento, transporte ou alojamento restrito são condições que desencadeiam desequilíbrio nas respostas comportamentais, cardiovascular, endócrina, renal, hematológicas e gastrointestinais. Estes e outros parâmetros se alteram durante o estresse podendo ser um indicativo de mal-estar (BEERDA et. al., 1997).

2.2 Estímulo sonoro e alterações comportamentais em cães

O aparelho auditivo foi se desenvolvendo com a função de reconhecer situações de perigo, primariamente, relacionadas à sobrevivência do indivíduo. E os sons ambientais provocam emoções e ações através da conexão direta do ouvido interno com os mecanismos neurais de “luta ou fuga”. E devido a sua característica de defesa, a audição não é interrompida nem mesmo durante o sono (*apud* FRANZINI, 2015).

Segundo Westman e Walters (1981), o sistema auditivo é capaz de processar frequências e intensidades de som relevantes para a sobrevivência do indivíduo em seu meio ambiente.

O som contribui para a homeostase do sistema nervoso central (SNC) e, conseqüentemente influencia o equilíbrio fisiológico do organismo através dos centros autonômicos e neuroendócrinos do hipotálamo. Dependendo da intensidade, complexidade, variabilidade, previsibilidade e significado do estímulo sonoro que dita o nível de estímulo do SNC.

De acordo com Westman e Walters (1981) há três tipos de respostas fundamentais ao estímulo sonoro, as respostas de orientação, o reflexo de surpresa e a resposta de defesa.

A resposta de orientação (reflexo de novidade) é uma resposta comportamental básica a todos os estímulos sonoros que, consiste na orientação da cabeça e dos olhos em direção à fonte sonora. Isso ocorre para preparar o organismo para responder à situação. Esse reflexo ocorre em resposta a sons de baixa a moderada intensidade e significância.

O reflexo deixa de ocorrer após várias repetições do mesmo som, sendo assim o indivíduo pode se habituar a sons familiares e sem significado. Mas, se um período de tempo considerável passa entre as repetições de um estímulo sonoro específico, o indivíduo volta a apresentar a resposta de orientação.

A habituação a determinado som normalmente não ocorre quando o indivíduo mantém voluntariamente sua atenção voltada para o estímulo, ou quando esse som possui um significado, seja ele positivo ou negativo. Sons que possuem sua intensidade próxima ao limiar de audição do indivíduo, são de difícil habituação, provavelmente devido à dificuldade do sistema auditivo de avaliar seu significado;

Reflexo de surpresa ocorre em resposta a sons repentinos, intensos ou de caráter assustador. Esse reflexo pode ser atenuado quando o estímulo pode ser antecipado pelo

indivíduo ou pode se tornar exagerado quando o indivíduo se encontra emocionalmente abalado ou com medo;

Na resposta de defesa o indivíduo reage a sons de intensidade, duração e significância suficientes para ser percebido como uma ameaça. A resposta consiste em alerta do córtex cerebral, por excitação emocional, e na preparação do corpo para ação. É nesta resposta que consiste o estresse, ativando o eixo HHA e o SNS, resultando no aumento da secreção de cortisol e adrenalina (WESTMAN; WALTERS, 1981).

Especialmente o estresse crônico pode prejudicar o bem-estar, porém a maioria estudos abordam o estresse agudo e não o estresse crônico. A adaptação pode neutralizar a resposta inicial do estresse e tornar os parâmetros agudos inúteis para avaliar o estresse crônico. A adaptação ao estresse é, portanto, por si só indicativo de bem-estar reduzido (BEERDA et. al., 1997).

Segundo Beerda et. al. (1997), a obtenção e aplicação de conhecimentos fundamentais de respostas ao estresse em cães deve medir mais do que um parâmetro para minimizar o risco de má interpretação. Portanto no presente estudo estamos analisando 20 parâmetros comportamentais baseados nos estudos prévios de MILLS e colaboradores(2003), MACCARIELLO (2012) e FRANZINI (2015).

De acordo com Beerda et. al., (1997), uma variedade de respostas comportamentais foi relatada durante o estresse agudo tais como: arfar, vocalizar, levantamento de pata, lamber focinho, postura arqueada, etc. No entanto, adaptação do animal pode tornar tais indicadores de estresse agudo inútil em detrimento do estresse crônico, especialmente o último pode conduzir a problemas de bem-estar.

Uma melhor compreensão da emoção animal é uma meta importante em disciplinas que vão desde a neurociência animal a ciência do bem-estar. As emoções não podem ser avaliadas diretamente, devido sua complexidade, mas sim correlacionando indicadores neurais, comportamentais e fisiológicos da mesma (MENDL et. al., 2010).

De acordo com Mendlet. al.(2010), os pesquisadores usaram esses indicadores para caracterizar como os animais respondem a situações, porém ainda carecemos de uma estrutura abrangente incorporando e integrando de maneira mais intrincada a vasta gama de possíveis estados emocionais.

Até o presente momento, há muitos estudos sobre medo e ansiedade, grande parte, com base no desenvolvimento de testes destinados a induzir esses estados, com

informações detalhadas sobre os indicadores comportamentais e fisiológicos das emoções(BOISSY 1995; RAMOS; MORMEDE 1998; FORKMAN et. al. 2007).

Ansiedade é vista como um estado de alarme, já o medo é um estado de excitação contínua, logo, fobia é o estado quando a excitação evoca uma resposta emocional completa do sistema nervoso autônomo (WALKER et. al., 1997).

Segundo Sherman e Mills, 2008, a ansiedade de separação bem como aversões a ruídos afetam o bem-estar dos cães e a estabilidade do vínculo humano-animal. O medo causado por uma ameaça e/ou perigo é uma emoção de alarme e pode provocar agitação. Entre os animais, este se manifesta por respostas fisiológicas, tais como taquicardia, hipersalivação, ou eliminação, associadas à fuga, evasão ou defensiva (SHERMAN; MILLS, 2008).

2.3 Fobia em cães

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

Apesar da correlação, há sobreposição entre as definições e uso dos termos ansiedade, medo e fobia. A ansiedade é uma reação perspectiva a um perigo ou incerteza incluindo sinais fisiológicos como aumento respiratório e cardíaco, tremor ou paralisia, salivação e sinais comportamentais como agitação, mantendo-se perto de uma pessoa (SHERMAN; MILLS, 2008).

Já o medo é uma emoção de alarme e a agitação causada por uma presente ameaça de perigo, manifestado por respostas fisiológicas, como taquicardia, hipersalivação, ou eliminação, e comportamentalmente respostas associadas a fuga, evasão, ou defensiva. Respostas de medo ocorrer em resposta à presença ou à proximidade de um objeto, pessoa, ou social situação (SHERMAN; MILLS, 2008).

Logo, fobia, se manifesta com comportamentos de ansiedade, associados com atividades acentuadas do sistema nervoso simpático. Os comportamentos podem incluir, mania concomitante, com diminuição da sensibilidade ou capacidade de resposta à dor,

ou estímulos sociais, além de fuga, vocalização, salivação, micção, defecação, tremores, comportamentos autodestrutivos e até convulsões (OVERALL, 2010).

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

As diferentes raças, gênero, idade e experiências de vida não devem ser ignoradas, todos esses parâmetros são importantes para melhor análise de estresse e medo em cães (BEERDA, et. al., 1997).

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

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

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

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

Ansiedade de separação e aversões a ruídos afetam o bem-estar dos cães e à estabilidade do vínculo humano-animal. Mesmo o mais dedicado proprietário é

desconfortável experimentar os custos financeiros pela destruição, eliminação entre outros problema secundários comportamentais (SHERMAN; MILLS, 2008).

Resposta exagerada a sons de trovão estão entre as doenças comportamentais mais comumente associados com pânico ou fobia em cães. Ocorre, geralmente, em todas as raças (OVERALL et al., 2001). Já se sabe que existe um fator hereditário para esse tipo de fobia e embora os mecanismos, pelos quais ela ocorre, ainda não sejam compreendidos, parece estar em alguma alteração na forma como a informação é processada, entre a amígdala e o córtex (OVERALL, 2010).

Também como a ansiedade, medos e fobias são queixas comuns e causam problemas aos tutores de cães. A falta de tratamento destes distúrbios comportamentais pode resultar no rompimento do vínculo humano-animal e posterior abandono, desistência, ou até mesmo eutanásia do cão afetado (MILLS, et.al, 2003).

Segundo Bezerra e Zimmermann, 2015, os sinais clínicos mais comumente encontrados em cães com transtornos comportamentais e mais citados pelos tutores como incômodos foram agressividade, eliminação inapropriada e vocalizações excessivas são, vocalização, eliminação, comportamento destrutivo e agressivo (SOARES et al. 2012).

As modificações no ambiente, manejo do animal e a rotina familiar, podem causar mudanças no comportamento animal, o que pode determinar o comportamento destrutivo, comportamentos esses que podem indicar algum problema de saúde e/ou afetar o bem-estar dos cães (BEAVER, 2001; MOREIRA, 2011; BEZERRA & ZIMMERMANN, 2015).

Para os tutores muitos dos comportamentos que os cães expressam são errados como latir, cavar e etc, mas para eles estes são comportamentos completamente normais e naturais, para que estes comportamentos sejam modificados temos que ensiná-los o oposto, procurando entender qual o motivo para tal conduta e corrigi-la da melhor forma possível, seja com o tratamento de dessensibilização e/ou com fármacos (BEZERRA, & ZIMMERMANN, 2015; ROSSI, 2002).

Os tratamentos são uma soma de fatores e requerem dedicação e tempo, pois necessita de educação do tutor, modificação do comportamento do cão, terapia com fármacos ansiolíticos, mudança do ambiente, é chamando de terapia comportamental (TEIXEIRA, 2009; MOREIRA, 2011; BEZERRA, & ZIMMERMANN, 2015)

Para o tratamento de transtornos comportamentais são utilizadas a maioria das drogas ansiolíticas, porém as mesmas além de auxiliares nesse tratamento, também

diminuem a capacidade de aprendizagem do cão (BEAVER, 2001; BEZERRA, & ZIMMERMANN, 2015;) o que podemos considerar uma reação adversa ao objetivo, além de causarem outras reações adversas como os efeitos colaterais (SOUZA, 2009).

Segundo Teixeira (2009) Bezerra, & Zimmermann (2015) os principais agentes utilizados nos transtornos comportamentais foram a buspirona, diazepam, alprazolam, lorazepam ou trazodona. O uso prolongado dessas drogas pode causar dependência, e estes fármacos são absorvidos muito rápidos, devendo ser administrados por curtos períodos, alguns podem causar reação paradoxal. Portanto é preciso ter cuidado ao administrar a medicação, o proprietário devesse observar e certificar se a mesma não causa sedação do cão. Logo, o antidepressivo tricíclico clomipramina, afeta a serotonina, norepinefrina, acetilcolina e histamina (TEIXEIRA, 2009; BEZERRA, & ZIMMERMANN, 2015;). Este fármaco tem efeitos colaterais cardíacos, sendo necessário solicitar um eletrocardiograma em alguns animais (SOUZA, 2009; BEZERRA, & ZIMMERMANN, 2015;). Além desses efeitos colaterais dos antidepressivos incluem vômitos, diarreia, baixa pressão arterial, boca seca e salivação.

Portanto, pelo fato dos medicamentos convencionalmente utilizados para distúrbios decorrentes do estresse causarem dependência e produzir diversos efeitos colaterais, estão sendo estudadas alternativas terapêuticas para diminuir as reações deletérias ao organismo ocasionadas pelas respostas aos estímulos estressores, com a busca de terapias alternativas, holísticas como a fitoterapia, homeopatia, florais ou até mesmo acupuntura.

2.4 Acupuntura, Terapia Integrante da Medicina Tradicional Chinesa

A palavra acupuntura é derivada dos radicais latinos “acus e pungere”, que significam agulha e puncionar respectivamente. Trata-se de uma terapia que faz parte da Medicina Tradicional Chinesa (MTC) e tem como técnica básica a inserção de agulhas finas de metal (aço inox) em pontos específicos da pele com propósitos terapêuticos. A teoria geral da acupuntura é baseada que há um padrão de fluxo de energia chamado “*Qi*”, que flui através o corpo, essencial para uma saúde perfeita. Assim, a acupuntura é uma técnica utilizada para corrigir disfunções fisiológicas reversíveis de diversas origens. Essa técnica vem sendo utilizada largamente como intervenção terapêutica em casos de

distúrbios comportamentais e físicos decorrentes de estresse (WEN, 1989; JAGGAR, 1992; SCHOEN, 2001).

Além do sentido restrito de agulhamento, a palavra acupuntura também tem sentido mais amplo, pois o estímulo dos acupontos também é realizado com outras técnicas tais como, alterações de temperatura, pressão entre outras (ALTMAN, 1997).

No Oriente, a acupuntura vem sendo usada com finalidades preventiva e terapêutica há vários milênios. Na China, cerca de 3000 anos AC eram utilizadas agulhas de pedra e de espinha de peixe. O texto clássico e fundamental da MTC, Ney Jing, ou "Clássico do Imperador Amarelo" descreve aspectos anatômicos, fisiológicos, patológicos, diagnósticos e terapêuticos das moléstias sobre a medicina oriental. Nesse tratado, já se afirmava que o sangue flui continuamente por todo o corpo, sob controle do coração. Cerca de 2000 anos depois, mais precisamente em 1628, William Harvey, proporia sua teoria sobre a circulação sanguínea (ALTMAN, 1992).

Segundo hipótese de Mann (1982), a inervação da pele recebe e envia impulsos de diferentes regiões do corpo (reflexos víscero-somáticos e somato-vísceral). Quando um órgão está em uma situação de desequilíbrio, gera um estímulo nos terminais nervosos sobre a pele, um reflexo, que torna o local dolorido ao ser pressionado, conhecido entre os acupunturistas como "ponto aShi", podendo ser sentido ao longo dos meridianos onde se localiza a maioria dos pontos de acupuntura. Quando uma agulha é inserida no ponto sensível (acuponto) as fibras nervosas são estimuladas, propagando estímulo eferente ao tronco encefálico, desencadeando *feedback* aferente ao órgão afetado, ajudando a restabelecer o seu equilíbrio normal, homeostase.

O mecanismo proposto é baseado no princípio de manter ou recuperar a homeostase. Pesquisas têm sido feitas para estabelecer adequadamente as propriedades e características desses mecanismos em termos de neuroanatomia, neurofisiologia e neuroquímica (TIRGOVISTE, 1975; YAMAMURA, 1993).

Na concepção chinesa, a saúde pode ser definida como um estado de harmonia entre o corpo e o seu ambiente interno e externo. O ambiente externo é caracterizado pela nutrição, clima, forças geofísicas e eletromagnéticas. Logo, os fatores internos são descritos por influências hereditárias, sistema neuroendócrino e estado emocional. Nesse conceito a saúde não é absoluta, mas sim um estado relativo (LIMEHOUSE, TAYLOR-LIMEHOUSE, 2006).

A doença surge quando há desequilíbrio dentro do ambiente interno e/ou externo, e se origina como resultado de diversas causas, ocorrendo juntas e sobrecarregando o mecanismo homeostático do organismo (LIMEHOUSE, TAYLOR-LIMEHOUSE, 2006).

2.5 Mecanismos e local de ação da acupuntura

Os mecanismos de ação da acupuntura estão intimamente relacionados com a origem do corpo energético e da forma física, no entanto no contexto da embriologia energética e morfológica, a energia incorpora-se a matéria para que juntas promovam a atividades orgânicas produzindo diversas substâncias. (YAMAMURA, 2001).

As duas forças energéticas básicas, o yin e o yang e suas interações promovem estímulos à ação da acupuntura e que estão relacionados com os canais de energia, o substrato anátomo-fisiológico da condução dos estímulos da acupuntura (canais de energia) relacionados à condução dos estímulos gerados pela agulha de acupuntura por meio das fibras nervosas. Os estímulos que chegam aos Zang (órgãos) Fu (vísceras) promovem a ativação do Qi, sendo distribuído pelo corpo através de duas vias, os canais de energia e o Xue. Essa via constitui a via humoral do mecanismo de ação da acupuntura. Seus estímulos chegam aos Zang Fu excitando energeticamente essas estruturas, promovendo suas atividades funcionais, produzindo substâncias químicas locais e sistêmicas, por exemplo, a formação de renina, atriopeptina, prostaglandinas, endorfinas, encefalinas, entre outras (YAMAMURA, 2001).

Acuponto é uma região da pele em que é grande a concentração de terminações nervosas sensoriais, essa região está em relação íntima com nervos, vasos sanguíneos, tendões, perióstios e cápsulas articulares (WU, 1990). Sua estimulação possibilita acesso direto ao SNC (FARBER; TIMO-IARIA, 1994; YAMAMURA, 2001).

Diversos trabalhos têm demonstrado grande número de mastócitos nos acupontos. Nesse sentido, Zhai (1992) verificou que ratos adultos possuem contagens de mastócitos significativamente mais altas nos acupontos que em outros locais. Segundo Hwang, (1992), junções específicas mastócito-célula nervosa foram observadas nos acupontos, bem como relatos de degranulação de mastócitos no acuponto após sua estimulação com agulha. Funcionalmente, os mastócitos estão intimamente relacionados às reações de hipersensibilidade imediata, inflamação neurogênica e enfermidades parasitárias. Sabe-

se, que mastócitos produzem interleucina8 (IL-8), um potente agente quimiotático para neutrófilos (MÖLLER et al., 1993).

A combinação das características descritas torna o ponto de acupuntura extremamente reativo ao pequeno estímulo causado pela inserção da agulha (KENDALL, 1989).

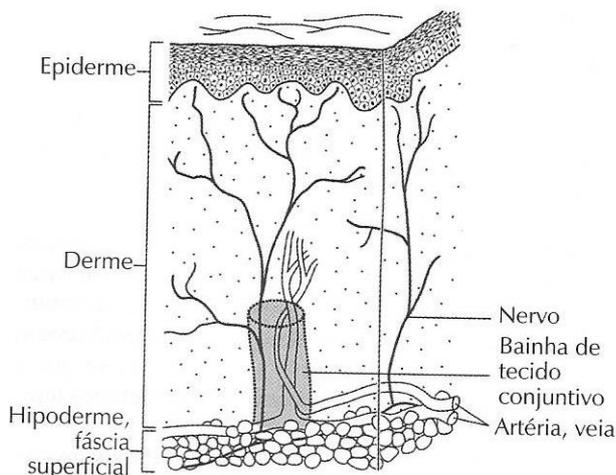


Figura 1: Pele mostrando feixe neurovascular abaixo de um acuponto. Fundamentos da Acupuntura Veterinária (SCHOEN, 2006).

Estudos morfofuncionais identificaram plexos nervosos, elementos vasculares e feixes musculares como sendo os mais prováveis sítios receptores dos acupontos, mostrados na figura 1, e outros receptores encapsulados, principalmente o órgão tendinosode Golgi e bulbos terminais de Krause também podem ser observados (HWANG, 1992).

Com a inserção da agulha, há o desencadeamento de uma ação estimulando mecanismos energético, humoral e neural, sendo que anatomicamente, dependendo da função de cada ponto, um desses mecanismos prevalece sobre os demais, entendendo a indicação dos diversos pontos, para as mais diversas patologias. Logo, a ativação do mecanismo neural é explicada pela correlação da neuroanatomia e da neurofisiologia, permitindo o estudo global da fisiologia. As interações do corpo e da mente e suas interações com o meio ambiente, preconizadas pela MTC, dá um significado diferente ao corpo humano, na concepção ocidental, e se fundamenta nas Leis Newtonianas. Com base em pesquisas do campo da eletrofísica, sabe-se que algumas áreas da pele, comparadas a regiões adjacentes, possuem melhor condutibilidade elétrica por diminuição da resistência, essas áreas são descritas como os pontos de acupuntura. Observou-se diferença

de potencial elétrico nesses pontos específicos da pele de acordo com influencia de fatores internos do corpo e de fatores ambientais (YAMAMURA, 2001).

Por meio de pesquisas histológicas foi demonstrado que a concentração de terminações nervosas livres e encapsuladas, de receptores articulares, órgão tendinoso de golgi, e fusos musculares, é maior nas áreas do corpo correspondentes aos pontos de acupuntura que nos tecidos adjacentes (YAMAMURA, 2001).

Gaviolle (1999) estudou a ação da acupuntura sobre o fenômeno regenerativo induzido em girinos *Rana catesbeiana* submetidos à amputação da cauda. Essa autora observou que a morfologia do tecido em regeneração dos girinos que receberam tratamento com acupuntura diferiu significativamente dos animais não tratados.

Os principais tipos de fibras relacionadas com a condução do estímulo da agulha de acupuntura são as fibras A-delta (ou grupo III), e as fibras C (ou grupo IV). A punção gera um estímulo que age sobre as terminações nervosas livres existentes nesses pontos que são regiões específicas da pele, alterando o potencial da membrana celular, desencadeando o potencial de ação e a condução de estímulo nervoso. A inserção superficial atingirá predominantemente receptores da fibra a delta, que fazem correlação com dores agudas e termocepção, enquanto a inserção profunda pode estimular fibras nervosas do fuso muscular A-delta e C e são utilizadas nas doenças de instalação mais consolidadas, crônicas (YAMAMURA, 2001).

De acordo com Yamamura, (2001), a inserção das agulhas determina três efeitos locais, o efeito elétrico, já descrito, neuroquímico (por ação mecânica a agulha lesa o tecido e são liberadas substâncias) e misto, por associação dos dois primeiros.

A inserção e manipulação da agulha causam lesões celulares, que provocam a nível local, a secreção de substâncias bioquímicas, como as substâncias P, e transformação do ácido araquidônico em leucotrienos, em tromboxano dos tipos A, B e prostaglandinas PGE, PGD. Essas substâncias alógenas estimulam os quimiorreceptores, e a principalmente a substância P, ativando os mastócitos a liberarem histamina, estimulando as fibras C e promovendo vasodilatação a nível capilar. Além da histamina, são liberados bradicinina, serotonina e íons potássio que também estimularam os quimiorreceptores, diminuindo o limiar de excitação. O potencial de ação da membrana culmina num efeito elétrico peculiar.

Quando o estímulo chega a medula espinhal através do trato de Lissauer, promove associações segmentares acima e abaixo do nível medular da estimulação, ocorrendo, à

nível das lamínas de Rexed da medula espinhal, sinapses com interneurônios (YAMAMURA, 2001).

No nível do corno posterior da medula, os estímulos aferentes conduzidos por fibras somáticas, estabelecerão sinapses com neurônios motores homolaterais e/ou contralaterais, para formar o arco reflexo somato-somático; com neurônios pré-ganglionares simpáticos, para formar o arco reflexo somato-visceral, sendo essa via particularmente importante na ação da acupuntura sobre os vasos sanguíneos periféricos e sobre os órgãos internos. E com neurônios do trato próprio-espinhal, que estabelece a nível medular, associações de segmentos superiores com inferiores, conectando os plexos braquial, lombar e sacral (YAMAMURA, 2001).

Os estímulos da acupuntura também são projetados da medula espinhal para o encéfalo, ativando ou inibindo varias estruturas importantes, como a formação reticular, via trato espinoreticular (espinotalâmico) e trato paleoespinotalâmico, interagindo coma modulação do sistema nervoso autônomo, no nível hipotalâmico (YAMAMURA, 2001).

Os estímulos da acupuntura são conduzidos, em grande parte, por meio dos tratos espinotalâmicos. As fibras A-delta projetam seus estímulos pelo trato neo-espinotalâmico e fazem mediação da dor aguda, e tem velocidade de condução mais rápida e estão ligadas aos mecanismos de defesa e fuga, enquanto as fibras C projetam-se pelo trato paleoespinotalâmico, conduzem mais lentamente os estímulos e estão associadas a dor crônica e aos estímulos viscerais (YAMAMURA, 2001).

Na projeção dos estímulos da medula espinhal até o encéfalo, as vias nervosas fazem conexões com varias partes do SNC, de modo que a acupuntura pode estimular ou inibir estruturas como na formação reticular (a níveis da substância cinzenta periaquedutal e do núcleo magno da rafe), hipotálamo, sistema límbico e áreas corticais (YAMAMURA, 2001).

Han e Xie, (1987), mostraram que os resultados da acupuntura sobre o sistema límbico são obtidos quando os estímulos tem frequência abaixo de 5 Hz, porque nessas condições serão estimuladas fibras do tipo C. Por outro lado, efeitos analgésicos são concebidos a partir de estímulos intensos e vigorosos promovendo liberação de endorfinas, atuando sobre as fibras A-delta, ou com frequências de 100 Hz, e 300 Hz uma analgesia mais profunda. Nesse caso, há liberação de substâncias opióides específicas, tanto na substancia gelatinosa, como no núcleo da rafe (YAMAMURA, 2001).

As interrelações de pele/músculos com os órgãos internos, por meio do sistema nervoso, constituem mecanismo totalmente integrado, e complexo, permitindo que o agulhamento do acuponto, excite terminações nervosas e gere um potencial de ação no sistema nervoso periférico somático, que induzirá um efeito tanto sistêmico como regional. Assim, os estímulos intensos com alta frequência atuam, predominantemente, sobre as fibras A-delta e tem efeito analgésico, em nível supra-segmentar, logo as fibras C possuem efeito mais marcante sobre o sistema nervoso autônomo (YAMAMURA, 2001).

A ação da acupuntura sobre a parte emocional é feita por meio da formação reticular e do sistema límbico, os quais manifestam, também, respostas no sistema autônomo e no eixo hipotálamo-hipófise, promovendo a homeostase neuroendócrina (YAMAMURA, 2001).

2.6 Acupuntura na redução das respostas de estresse

Na medicina ocidental contemporânea, a acupuntura é considerada uma modalidade de estímulo sensorial que afeta diversas classes de fibras nervosas aferentes (MANNI et. al., 2009), podendo ativar os centros autonômicos ajudando na manutenção da homeostase e na melhora da eficiência dos mecanismos imunológicos (YANG et. al., 2002).

Diversas pesquisas investigaram os efeitos da acupuntura nas respostas ao estresse e mostraram evidências de que a acupuntura pode reduzir os níveis de noradrenalina em regiões do cérebro bem como na circulação sanguínea (CAO et. al., 1983).

Liao (1980) demonstrou que a estimulação elétrica do ponto E36 (*Zusanli*) inibiu a hipersecreção de corticosterona induzida pelo estresse de imobilização em coelhos. Em ratos, a eletroacupuntura nos pontos PC6 e C3 reduziu os níveis de adrenalina e noradrenalina, além de reduzir a frequência cardíaca e a pressão arterial de animais submetidos ao estresse de imobilização (YANG et al., 2002). Em humanos, a acupuntura no ponto E36 (*Zusanli*), foi capaz de reduzir significativamente as elevações na pressão arterial induzida pelo estresse (MIDDLEKAUFF et al., 2001).

Segundo Kim et. al., (2009), vários estudos tem demonstrado os efeitos da acupuntura na regulação da função do eixo HHA, depois de uma resposta a estímulos estressores. Foi demonstrado também que pontos como o Pc6 (Neiguan) localizado no

meridiano do pericárdio, têm sido utilizados com sucesso no tratamento de doenças mentais e desordens psicossomáticas. Este ponto também é conhecido por ter um efeito tranquilizante e antiemético, sendo utilizado no tratamento de várias modalidades de estresse (YANG et. al., 2002; KIM et. al., 2009).

Os efeitos da acupuntura foram avaliados em experimentos mimetizando estresse agudo por contenção, exercícios/treinamento, susto e fobias. Guimarães e colaboradores (1997) avaliaram o efeito da acupuntura nos acupontos BP6, E36, VC17, PC6, VG20 durante um período de imobilização de 60 minutos em ratos *Wistar*, utilizando como parâmetros cardiovasculares a pressão arterial, a frequência cardíaca e análise de comportamento. Os resultados obtidos sugeriram que a acupuntura aplicada durante o estresse agudo por contenção atenua alguns comportamentos envolvidos na reação de luta ou fuga característica do estresse, de maneira independente dos parâmetros cardiovasculares avaliados.

Além destes efeitos moduladores das respostas de estresse, estudos recentes têm comprovado a indicação milenar do uso da acupuntura para o tratamento de alterações cognitivas, como a estimulação elétrica transcutânea (TENS), capaz de melhorar a memória de curta e longa duração, a fluência verbal, as funções físicas e afetivas de pacientes com Doença de Alzheimer (GUO et. al., 2002). Estes efeitos da acupuntura nas funções cognitivas podem estar relacionados a alterações plásticas do SNC. Os efeitos da acupuntura nas respostas ao estresse foram avaliados em nosso grupo de pesquisa com experimentos mimetizando estresse agudo por fobias em cães de laboratório, companhia (MACARRIELO, 2012; FRANZINI, 2015) e equinos (VILLAS-BOAS, 2013).

Na pesquisa de Villas-Boas, 2013, equinos foram divididos em grupos (G1: Controle, G2: Acupuntura em não-pontos; G3: Acupuntura), e submetidos ao teste de sobressalto com a abertura abrupta de um guarda-chuva e reação de sobressalto mostrou que uma sessão de a acupuntura nos pontos VG1, VG20, C7 e B52 imediatamente antes do estresse de sobressalto foi capaz de reduzir significativamente as respostas autonômicas e endócrinas (razão LF/HF no momento de ativação parassimpática e os níveis de cortisol 30 minutos pós estresse), indicando uma recuperação mais rápida e um efeito anti-estresse da acupuntura. O tratamento realizado em não pontos não produziu nenhum efeito sobre os parâmetros estudados (VILLAS-BOAS, 2013). Dessa forma, mais uma vez os dados sugerem que a acupuntura constitui uma terapia promissora no controle do estresse em equinos.

Na pesquisa de maccariello, 2012, o tratamento por acupuntura nas respostas ao estresse foi avaliado também em cães de laboratório com objetivo de analisar o balanço simpato-vagal, através da análise da Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) e 14 parâmetros comportamentais. Foram utilizados 24 cães da raça Beagle divididos em três grupos (G1: grupo controle, G2: não pontos, G3: Acupuntura nos pontos VG20, *Yintang*, Pc6, C7 e E36 (ACUP). Os animais foram submetidos a um modelo de estresse agudo de som de trovão. Os resultados demonstraram que durante o estímulo sonoro a acupuntura significativamente reduziu a razão LF/HF e FC média em relação aos grupos NP e CTL. Na análise comportamental, a ACUP quando comparado ao grupo CTL apresentou escores comportamentais significativamente menores de arfar, se esconder, inquietação, disparada, fugir da sala e sobressalto; e quando comparado ao grupo NP, a ACUP reduziu os escores comportamentais de se esconder, disparada, sobressalto e fugir da sala. Além de reduzir significativamente os parâmetros de arfar e disparada em relação ao CTL, o grupo NP produziu escores intermediários entre CTL e ACUP. A análise destes dados demonstra que o tratamento com acupuntura promoveu redução do balanço simpato-vagal provavelmente através de uma inibição simpática associada à estimulação parassimpática, além de produzir redução das respostas comportamentais de luta e fuga características de estresse (MACCARIELLO, 2012).

As respostas ao estresse foram avaliadas em nosso grupo de pesquisa também com experimentos comparando o estresse agudo por fobias em cães fóbicos e não fóbicos, avaliou-se a reatividade de cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício, através da análise da VIC e de parâmetros comportamentais. Foram utilizados 28 cães de companhia. O estímulo sonoro (trovão ou fogos) foi capaz produzir aumento significativo da razão LF/HF tanto em animais não-fóbicos como em animais fóbicos, produzindo um aumento nos comportamentos de vigilância, tremer e se esconder. Apenas animais fóbicos submetidos ao modelo som de fogos apresentaram respostas comportamentais significativamente mais intensas que cães não-fóbicos nos parâmetros Tremer, Se Esconder, Vigilância e Salivação. Sendo que o modelo utilizado foi capaz de induzir respostas comportamentais e autonômicas de estresse e se mostra uma boa ferramenta na mensuração da magnitude das respostas de estresse de animais de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e fogos de artifício e pode ser utilizado na avaliação de novos caminhos terapêuticos (FRANZINI, 2015).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local de execução do trabalho experimental

O trabalho experimental foi realizado nas instalações do Centro Cirúrgico de Pesquisa e Extensão (Figura 2) do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), no Ambulatório de Acupuntura do Setor de Pequenos Animais do Hospital Veterinário de da UFRRJ e no Laboratório de Fisiologia Animal da UFRRJ. Todos os procedimentos estão de acordo com a lei 11794 de 8 de outubro de 2008 que regulamenta o uso de animais em experimentação. O presente experimento encontra-se aprovado pelo Comitê de Ética na Pesquisa da UFRRJ/ CEUA-IB, nº 23083.4796/2014-14.



Figura 2: Foto panorâmica do Centro Cirúrgico de Pesquisa e Extensão do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro A: Vista dos fundos da sala B: Vista lateral acima C: Vista lateral abaixo. **Fonte:** Acervo Pessoal.

3.2 Animais

Os animais participantes deste estudo foram provenientes de uma pesquisa prévia realizada através de questionário online, onde tutores de 350 cães com histórico de medo exagerado a sons (FRANZINI E MEDEIROS, 2016), responderam questões sobre fatores de risco e comorbidades do medo exagerado a sons. Este questionário foi distribuído e divulgado através de e-mail (pesquisacaofobico@gmail.com) e redes sociais (<https://www.facebook.com/pesquisacaofobico/>) veiculado pela internet. Destes cães,

foram contactados os tutores com disponibilidade para participar do estudo, animais dóceis e residentes nas proximidades de Seropédica-RJ.

Dos tutores contactados foram incluídos cães de diversas raças, de porte médio, com 1 a 10 anos de idade, pesando de 8 a 60 Kg, saudáveis, sem histórico de doença concomitante, com vacinas e vermifugação em dia, provenientes do município de Seropédica-RJ. Antes de serem inseridos no estudo, os animais foram submetidos a um exame clínico que constituiu em inspeção, palpação, auscultação e termometria retal e ao exame neurológico para descartar doenças concomitantes e atestar que estavam saudáveis para participar do experimento (Anexo 2). Os tutores foram informados sobre os objetivos e métodos de estudo, e ao aceitarem participar do projeto voluntariamente, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, que garante a plena liberdade para interromper a participação no projeto quando desejado (Anexo 1).

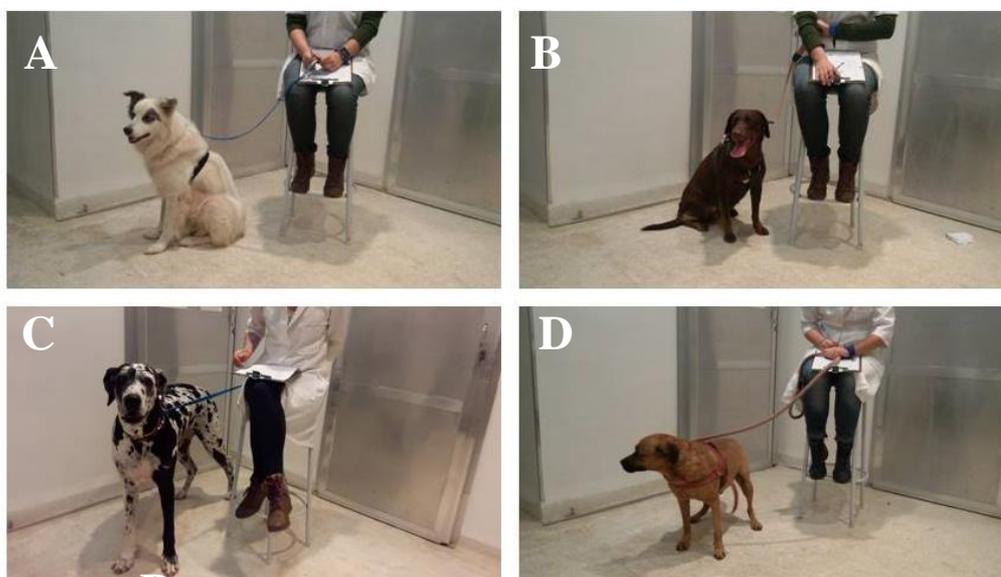


Figura 3: Cães de companhia com histórico de fobia, de diversas raças, que participaram do experimento. A: Half, SRD; B: Layla, Labrador; C: Sophie, Dog Alemão; D: Pixote, SRD. **Fonte:** Acervo Pessoal.

3.3 Protocolo experimental

O protocolo experimental está ilustrado na figura 4. Animais selecionados foram submetidos ao modelo do estresse sonoro agudo Dia 1 e então divididos aleatoriamente em dois grupos: controle e acupuntura. Após as oito semanas de tratamento, todos os animais foram novamente submetidos ao modelo de estresse sonoro agudo. Ao final, os

tutores dos animais dos dois grupos, CTL e ACUP responderam a um questionário sobre a responsividade dos cães a sons no ambiente doméstico após tratamento (Anexo 3).

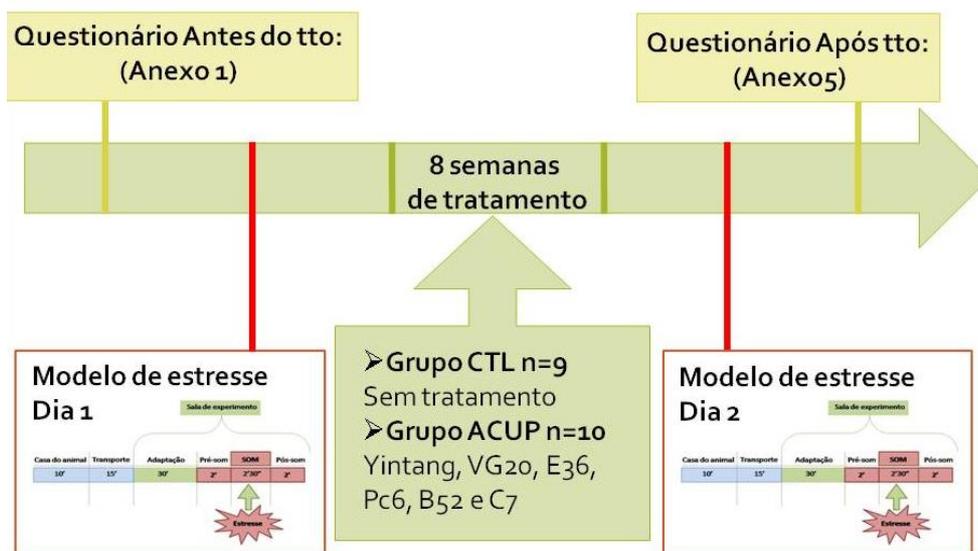


Figura 4: Protocolo experimental geral.

3.4 Modelo de estresse sonoro agudo

O protocolo experimental (Figura 5) foi realizado individualmente, iniciando-se sempre às 8 horas com um cão e às 10 horas com outro cão, sendo 2 cães por dia. Um pesquisador, acompanhado de outro pesquisador colaborador, realizaram todo o protocolo experimental, sem se ausentarem em nenhuma etapa.

Inicialmente ao chegar na residência dos cães, os pesquisadores permaneceram por 10 minutos próximos aos cães para um período de adaptação dos animais aos pesquisadores. Em seguida cada animal individualmente foi transportado para a sala onde foi executado o modelo de estresse sonoro agudo (Centro Cirúrgico de Pesquisa e Extensão do Instituto de Veterinária da UFRRJ, Figura 2). O transporte, que teve duração de aproximadamente 15 a 20 minutos, foi realizado com o animal acondicionado num carro de passeio numa caixa de transporte, com ventilação adequada, própria para o seu tamanho.

Os animais permaneceram na sala, sem manipulação e sem interação com os pesquisadores, por 30 minutos iniciais, para se ambientarem com o local.

O estímulo sonoro foi realizado com cada animal posicionado a um metro das caixas de som. Para observação das reações comportamentais, cada animal foi mantido preso pela guia, podendo reagir e se locomover naturalmente.

Durante e após o fim do estímulo sonoro, cada animal permaneceu sem qualquer manipulação.

O estímulo sonoro (descrito em detalhes na próxima sessão) consistiu em uma gravação de sons de fogos de artifício no formato wave padronizado a uma intensidade sonora máxima de 103-104 dB e teve duração de 2 minutos e 30 segundos (MACCARIÉLO,2012;FRANZINI, 2015).

A filmagem foi realizada por uma câmera Canon modelo: Power Shot SX 120 IS com registros de filmagem 2 minutos antes, durante o estímulo sonoro e 2 minutos após seu término, para o registro das reações comportamentais nos momentos pré-som, som e pós-som.

Após o término das filmagens os animais foram transportados da mesma forma para suas respectivas residências.

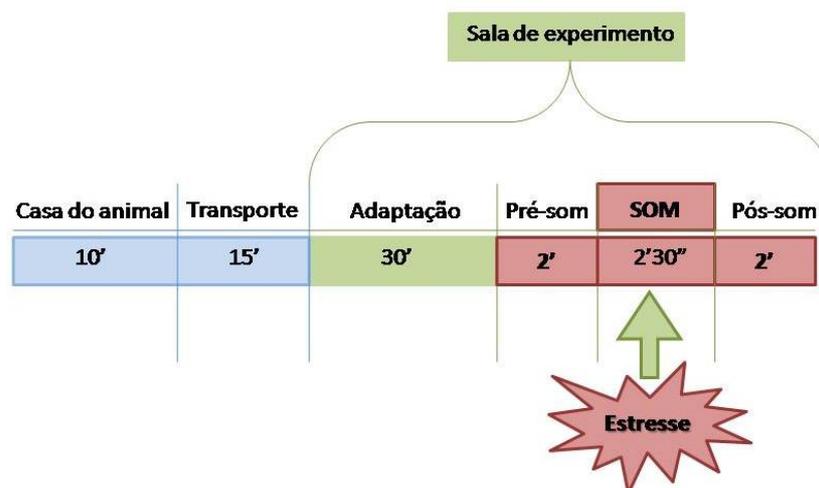


Figura 5: Esquema do protocolo experimental no dia do estresse

3.5 Estímulo sonoro

Os estímulos sonoros consistiram de uma gravação com duração de 2 minutos e 30 segundos de sons de fogos de artifício mixado de um arquivo sonoro no formato wave (“*continuous fireworks*”) adquiridos no endereço eletrônico <http://www.sound-effect.com>. O formato utilizado possui a vantagem de ser uma gravação que preserva todas as variações de frequência do som original. A intensidade do som foi padronizada através

de um decibelímetro, modelo BK Precision 732A SoundLevelMeters a 103-104 dB, por ser uma pressão sonora capaz de aumentar as concentrações de cortisol sérico em cães, estando abaixo dos limites que possam causar danos ao aparelho auditivo (ISING et al., 1999).

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

3.6 Tratamentos:

Os animais foram divididos em dois grupos de forma aleatória:

- CTL (n=9) grupo controle (não tratado)
- ACUP (n=10) grupo tratado com acupuntura

No grupo ACUP, os animais foram posicionados num local confortável em sua própria casa e foram inseridas agulhas de acupuntura nos pontos Yintang, VG20, E36 (bilateral), PC6 (bilateral), B52 (bilateral) e C7 (bilateral) (Figuras 6, 7 e 8, Tabela 1). As agulhas foram mantidas sem manipulação adicional por 20 minutos. Os animais permaneceram com as agulhas sem necessidade de contenção, sendo necessário apenas a presença dos tutores. Foram realizadas 8 sessões de acupuntura, 1 por semana. O grupo CTL foi submetido apenas ao modelo de estresse sonoro sem ser submetido a qualquer tratamento durante 8 semanas.

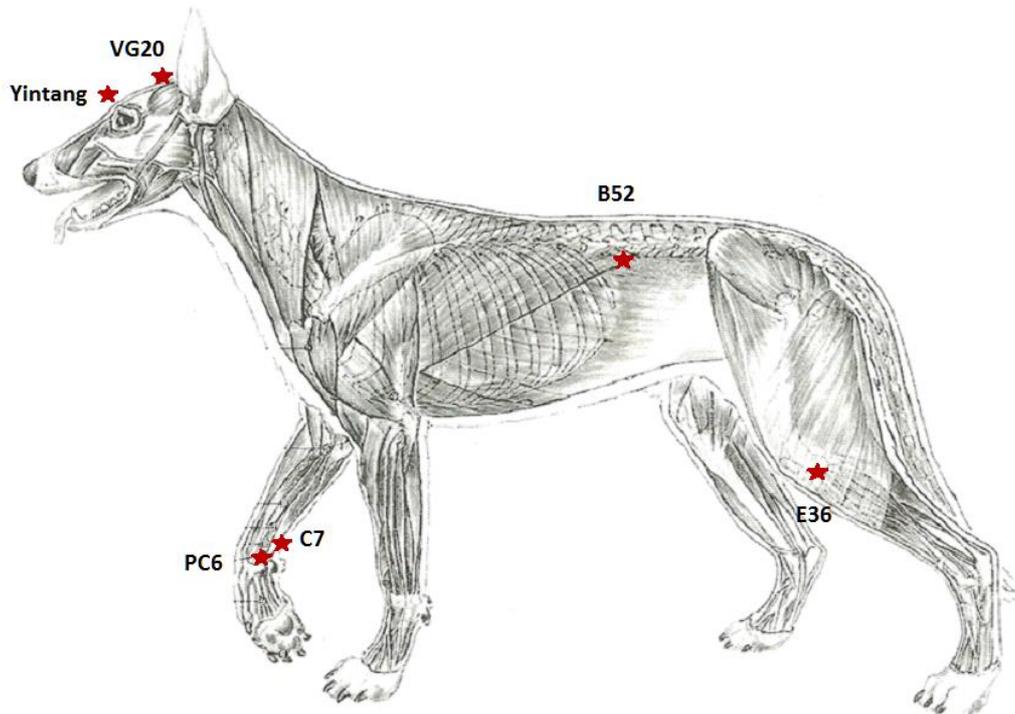


Figura 6: Localização dos pontos de acupuntura utilizados no tratamento de 10 cães com histórico de fobia a som de trovão, do grupo ACUP (vista lateral). Adaptado de DRAEHMPAEHL; ZOHMANN, 1997).



Figura 7: Fotografia ilustrativa do cão durante uma sessão de acupuntura nos pontos C7 e PC6. Fonte: Acervo Pessoal.



Figura 8: Fotografia ilustrativa do cão durante uma sessão de acupuntura nos pontos Yintang, VG20, B52, E36. **Fonte:** Acervo Pessoal.

Para a localização dos pontos de acupuntura a MTC, além de coordenadas anatômicas, utiliza-se uma unidade de medida relativa denominada cun. Um cun equivale, no caso dos cães, à largura da costela flutuante ou ao comprimento da primeira vértebra coccígea (XIE; PREAST, 2007).

Tabela 1: Indicações e localização dos pontos de acupuntura:

Ponto	Localização	Substrato anatômico	Indicações
<i>Yintang</i> VG24-1 (Ponto da Maravilha)	Linha média dorsal da cabeça, entre as duas fossas temporais	Ramo dorsal nasal da artéria infraorbitária. Ramo zigomático do nervo auriculopalpebral do nervo facial. Ramo dorsal do nervo oftálmico	Elimina o vento interno (trata convulsões, medo); tranquiliza o <i>shen</i> (trata distúrbios psíquicos e ansiedade).
VG20 ou <i>Baihui</i> (Cem encontros)	Na interseção da linha média dorsal da cabeça com a linha formada a partir do ápice das duas orelhas	Ramificações finais da artéria e veia temporal superficial e ramificações da artéria e veia occipital. Ramificações do nervo occipital maior.	Tranquiliza o vento, acalma o <i>yang</i> , beneficia o cérebro e os órgãos dos sentidos, tranquiliza o <i>shen</i> (trata tontura, dores de cabeça, distúrbios psíquicos, relaxa os tendões e os músculos).
Pc6 ou <i>Neiguan</i> (passagem interna):	Localiza-se a três cun proximal à articulação do punho, entre os tendões dos músculos flexor digital superficial e flexor radial do carpo	Artéria e veia interóssea caudal, artéria e veia mediana. Nervo mediano, nervo cutâneo antebraquialmedial (do nervo músculo cutâneo) e em parte, ramo medial do nervo cutâneo antebraquial lateral (nervo radial).	Tranquiliza o <i>shen</i> (trata ansiedade, inquietação, distúrbios psíquicos, convulsão, histeria); harmoniza o estômago (trata distúrbios gástricos)
C7 ou <i>Shenmen</i> (porta da mente)	Na altura da articulação carpal, no orifício maior lateral	Nervo cutâneo antebraquial medial do nervo músculo-cutâneo, ramo palmar do nervo ulnar. Na junção da artéria e veia ulnar e artéria e veia interóssea caudal.	Regula e fortalece o coração (o <i>yin</i> e o sangue), tranquiliza o <i>shen</i> (trata distúrbios psíquicos, distúrbios do sono, histeria, pavor, ansiedade, dor torácica, é ponto de sedação).
B52 ou <i>Zhishi</i> (espírito do Shen “vontade”)	Situa-se a 1 e ½ tsun laterais ao B23.	Margem inferior do processo espinhoso da 2ª vértebra lombar.	Tonifica o ShenQi (Rins) e Essência, Harmoniza a via das águas, drena umidade e dissipa estagnação do ShenQi, Aumenta a energia essencial.
E36 ou <i>Zusanli</i> (Três milhas do pé)	Encontra-se a 0,5 cun lateral à crista da tíbia, na concavidade do músculo tibial cranial.	Nervo fibular comum (profundamente), nervo cutâneo lateral da sura e ramificações da pele do nervo safeno (superficialmente). Artéria e veia tibial cranial. Fusos tendíneos e musculares do músculo tibial cranial.	Fortalece o <i>qi</i> e o <i>yang</i> , nutre o sangue e o <i>yin</i> (ponto regulador geral de energia, principal ponto utilizado em estados de fraqueza, tontura, alergias, e para imunestimulação); regula o estômago, fortalece o baço, transforma umidade (trata distúrbios do trato gastrointestinal); tranquiliza o <i>shen</i> (trata inquietação, estado de choque, histeria).

Adaptado de: (XIE; PREAST, 2007; SCHOEN, 2006; MACIOCIA, 1996)

3.7 Análise Comportamental durante o modelo de estresse sonoro agudo

As filmagens dos momentos pré-som, som e pós-som dos dia 1 e 2 (antes e depois do tratamento) foram inicialmente analisados e foram escolhidos 20 parâmetros

comportamentais mais frequentes na nossa amostra experimental. As análises destes parâmetros foram baseadas em Mills et. al., (2003) e em trabalhos prévios do nosso laboratório (MACCARIELLO, 2012; FRANZINI, 2015).

Cinco parâmetros (arfar, alerta/atenção, farejar, caminhar/correr, tremer) foram classificados de forma quantitativa sendo analisado o tempo de ocorrência, em segundos. Nove parâmetros (pestanejar/dormir, levantamento de patas, procurar som, bocejar, levanta/senta/deita, lambar patas/focinho, interação com as pessoas, fugir do ambiente, esconder-se,) foram classificados de forma quantitativa, sendo analisado o número de ocorrência de cada comportamento. Seis parâmetros (vocalização, sobressalto, congelamento, postura arqueada, abaixamento e ou cauda entre as pernas, abanar a cauda) foram classificados quanto a intensidade de eventos observados em uma escala de 4 notas aonde: 0 = não observado, 1 = resposta leve, 2 = resposta moderada e 3 = resposta intensa (MILLS et al., 2003). Na tabela 2 estão descritos os parâmetros comportamentais analisados.

Tabela 2: Descrição dos 20 Parâmetros Comportamentais Analisados.

Parâmetro	Descrição
Classificados de forma quantitativa, sendo analisado o tempo de ocorrência, em segundos.	
Alerta/atenção	O cão inclina a cabeça para um dos lados, permanecendo por determinado tempo, e ergue as orelhas.
Arfar	O cão permanece com a boca amplamente aberta e respira pela boca. Aumento da frequência de inspiração e expiração em combinação com a abertura da boca.
Caminhar/correr	O cão passa a caminhar/correr pela sala de experimento sem um rumo aparente. Resposta exagerada de fuga correndo, para qualquer direção.
Farejar	O cão fareja os objetos e/ou chão da sala de experimentos.
Tremer	Evidência clara de tremor no corpo.
Classificados de forma quantitativa, sendo analisado o número de ocorrência de cada comportamento.	
Bocejar	O cão inspira pela boca grande quantidade de ar, fechando-a em seguida.
Esconder-se	O cão esconde-se entre/abaixo dos móveis da sala de experimento (ex: mesa, cadeira).
Fugir do ambiente	Intencionalmente tentar sair do local, procurando possíveis acessos de saída.
Interação com as pessoas	Se deslocar deliberadamente para perto de uma pessoa, parando ao seu lado ou tentando interagir. O cão procura relacionar-se com as pessoas que realizam o experimento.
Lamber patas/focinho	O cão lambe repetidamente as patas dianteiras e/ou focinho.
Levantamento de patas	Animal levanta 1 ou 2 patas da frente em direção a pessoa ou a porta.
Levanta/senta/deita	O cão inicialmente encontra-se deitado/sentado e coloca-se em pé, ou vice-versa.
Pestanejar/dormir	Animal mexe as pálpebras rapidamente, abrindo e fechando os olhos.
Procurar som	O cão, através da movimentação de orelhas, busca identificar a origem do som.
Classificados quanto a intensidade: 0 = não observado, 1 = resposta leve, 2 = resposta moderada e 3 = resposta intensa.	
Abanar a cauda	O cão, através de movimentos pendulares, balança sua cauda de um lado para o outro repetidamente.
Abaixamento de cauda/entre as pernas	A cauda do cão passa a estar posicionada em um plano abaixo do dorso do animal. A parte final da cauda do cão situa-se entre as pernas traseiras.
Congelamento	Animal fica parado.
Postura arqueada	O cão senta-se com a coluna curvada.
Sobressalto	Resposta exagerada de susto, levando o animal a pular para qualquer direção.
Vocalização	Emitir qualquer som vocal como: latir, ganir, chorar, rosnar.

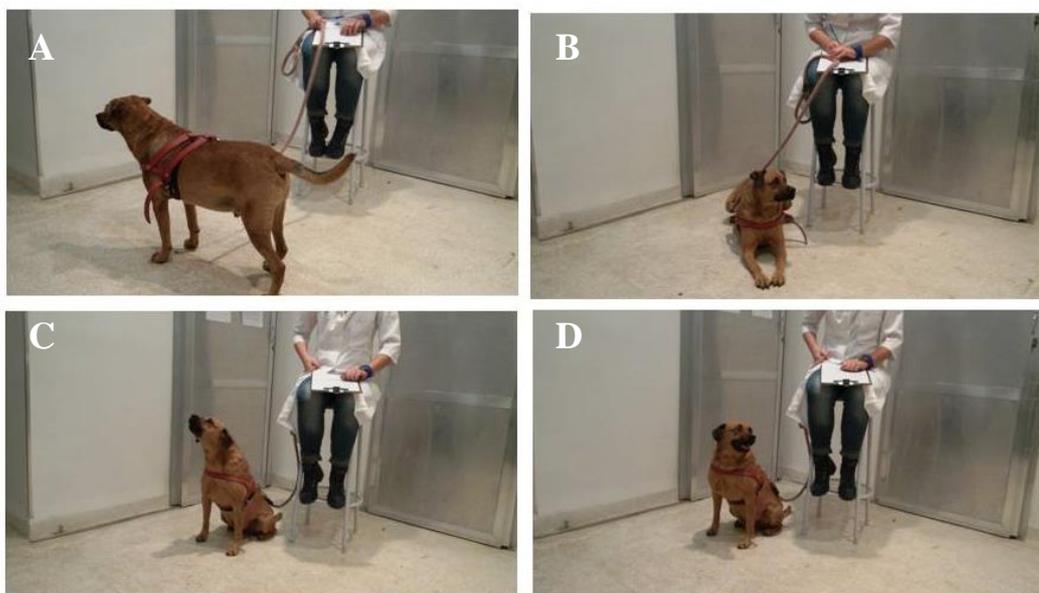


Figura9: Figura ilustrando diferentes comportamentos no momento do experimento. A: Fugir; B: Procurar som; C: Vocalização; D: Arfar e Procurar som. **Fonte:** Acervo Pessoal.

3.8 Percepção dos tutores quanto a melhora dos sinais de medo durante e após o tratamento

Os tutores responderam a um questionário contendo questões discursivas, com objetivo de avaliar se houve melhora nas reações dos cães com relação ao medo exagerado a sons, durante o tratamento por acupuntura e após as 8 semanas do tratamento.

3.10 Estatística

Os dados comportamentais avaliados em laboratório foram analisados utilizando ANOVA de duas vias para medidas repetidas com as variáveis repetidas (efeito do som: pré-som, som e pós-som) e efeito do tratamento (antes e depois) e grupo (CTL e ACUP).

A percepção dos tutores em relação à melhora das reações de medo do cão após o tratamento foi analisada através de duas questões: se o tutor percebeu melhora durante o tratamento e se o tutor percebeu melhora depois do fim do tratamento. A resposta para os dois grupos experimentais (CTL e ACUP) foi analisada pelo teste de Fisher.

As análises estatísticas foram realizadas com SPSS Versão 21 (IBM SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) utilizando intervalo de confiança de 95%. Os gráficos foram construídos usando GraphPadPrism 6.0 (Software GraphPad).

4 RESULTADOS

4.1 Análise das reações comportamentais antes e após o estímulo sonoro

Na ANOVA para medidas repetidas foram utilizados como fatores com medidas repetidas o efeito do som (pré-som, som e pós-som) e efeito do tratamento (antes e depois) e como fator não repetido o grupo (CTL e ACUP). O programa SPSS fornece um quadro para cada variável estudada com o efeito de cada fator em separado e em conjunto (Quadro 1). Na tabela 8 estão apresentados os resultados estatísticos relevantes dos parâmetros analisados, indicando o que cada variável significa dentro da pergunta experimental.

Quadro 1: Quadro fornecido pelo programa SPSS mostrando o efeito de cada fator analisado.

Multivariate Tests ^a						
Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
temposom	Pillai's Trace	.578	10.945 ^b	2.000	16.000	.001
	Wilks' Lambda	.422	10.945^b	2.000	16.000	.001
	Hotelling's Trace	1.368	10.945 ^b	2.000	16.000	.001
	Roy's Largest Root	1.368	10.945 ^b	2.000	16.000	.001
temposom * Grupo	Pillai's Trace	.503	8.109 ^b	2.000	16.000	.004
	Wilks' Lambda	.497	8.109 ^b	2.000	16.000	.004
	Hotelling's Trace	1.014	8.109 ^b	2.000	16.000	.004
	Roy's Largest Root	1.014	8.109 ^b	2.000	16.000	.004
tempotratamento	Pillai's Trace	.050	.903 ^b	1.000	17.000	.355
	Wilks' Lambda	.950	.903 ^b	1.000	17.000	.355
	Hotelling's Trace	.053	.903 ^b	1.000	17.000	.355
	Roy's Largest Root	.053	.903 ^b	1.000	17.000	.355
tempotratamento * Grupo	Pillai's Trace	.096	1.796 ^b	1.000	17.000	.198
	Wilks' Lambda	.904	1.796^b	1.000	17.000	.198
	Hotelling's Trace	.106	1.796 ^b	1.000	17.000	.198
	Roy's Largest Root	.106	1.796 ^b	1.000	17.000	.198
temposom * tempotratamento	Pillai's Trace	.035	.291 ^b	2.000	16.000	.751
	Wilks' Lambda	.965	.291 ^b	2.000	16.000	.751
	Hotelling's Trace	.036	.291 ^b	2.000	16.000	.751
	Roy's Largest Root	.036	.291 ^b	2.000	16.000	.751
temposom * tempotratamento * Grupo	Pillai's Trace	.008	.064 ^b	2.000	16.000	.939
	Wilks' Lambda	.992	.064^b	2.000	16.000	.939
	Hotelling's Trace	.008	.064 ^b	2.000	16.000	.939
	Roy's Largest Root	.008	.064 ^b	2.000	16.000	.939

a. Design: Intercept + Grupo- WithinSubjects Design: temposom + tempotratamento + temposom * tempotratamento

b. Exact statistic

Tabela 8: Resultados da análise estatística do efeito do tratamento por acupuntura nas respostas comportamentais induzidas pelo estímulo sonoro.

	Efeito tempo som (O som altera este comportamento?)	Efeito tratamento x grupo (o comportamento é alterado depois do tratamento por acup?)	Efeito tempo som x tempo tratamento x grupo (o tratamento por acup altera comportamento em algum momento específico do som?)
Alerta/atenção	P<0.001	Ns	ns
Arfar	ns	Ns	ns
Caminhar/correr	P=0.008	P=0.01	ns
Farejar	ns	Ns	ns
Tremer	ns	Ns	ns
Bocejar	ns	Ns	ns
Esconder-se	P=0.003	Ns	ns
Fugir do ambiente	P=0.004	P=0.035	ns
Interação com as pessoas	P=0.004	Ns	ns
Lamber patas/focinho	P=0.056	Ns	ns
Levantamento de patas	ns	Ns	ns
Levanta/senta/deita	P=0.004	Ns	ns
Pestanejar/dormir	ns	Ns	ns
Procurar som	P<0.0001	Ns	ns
Abanar a cauda	ns	Ns	ns
Abaixamento de cauda/entre as pernas	P=0.008	Ns	ns
Congelamento	P=0.001	Ns	ns
Postura arqueada	P=0.056	P=0.034	ns
Sobressalto	P<0.0001	Ns	ns
Vocalização	ns	Ns	ns

O estímulo sonoro foi capaz de aumentar a ocorrência dos seguintes parâmetros comportamentais: alerta/atenção, caminhar/correr, esconder-se, fugir do ambiente, interação com as pessoas, levanta/senta/deita, procurar som, abaixamento e ou cauda entre as pernas, congelamento e sobressalto. Os parâmetros postura arqueada e lamber patas/focinho apresentaram tendência estatística a aumento, $p=0,056$. O tratamento por acupuntura foi capaz de reduzir a ocorrência dos parâmetros comportamentais: caminhar/correr, fugir do ambiente e postura arqueada (Figuras 12, 13 e 14)

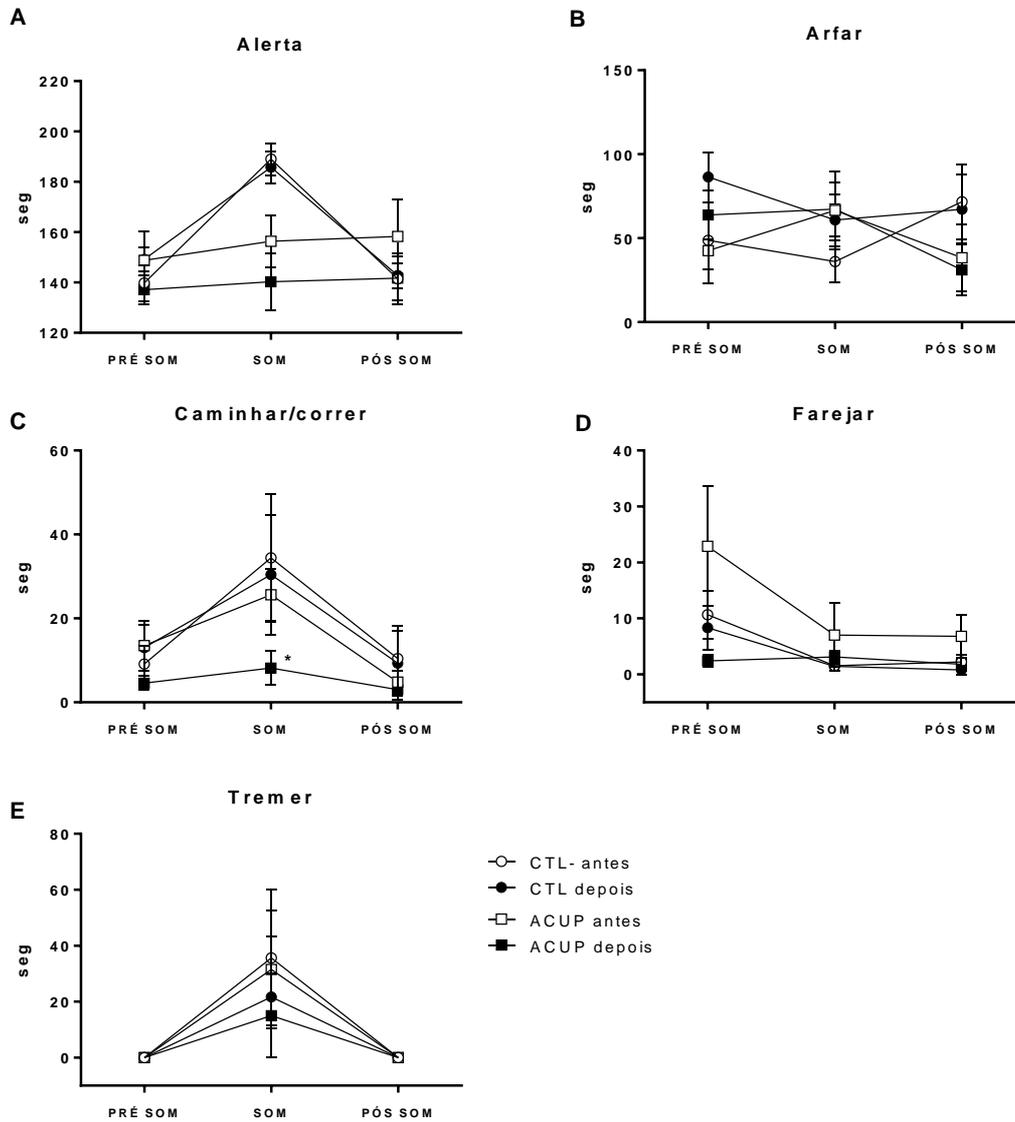


Figura 13: Cinco parâmetros comportamentais (alerta, arfar, caminhar/correr, farejar, tremer) classificados de forma quantitativa (tempo de ocorrência, em segundos) em cães de companhia com histórico de medo exagerado a sons de trovão/fogos de artifício submetidos a um modelo de estresse sonoro. * indica diferença significativa entre ACUP antes e ACUP depois.

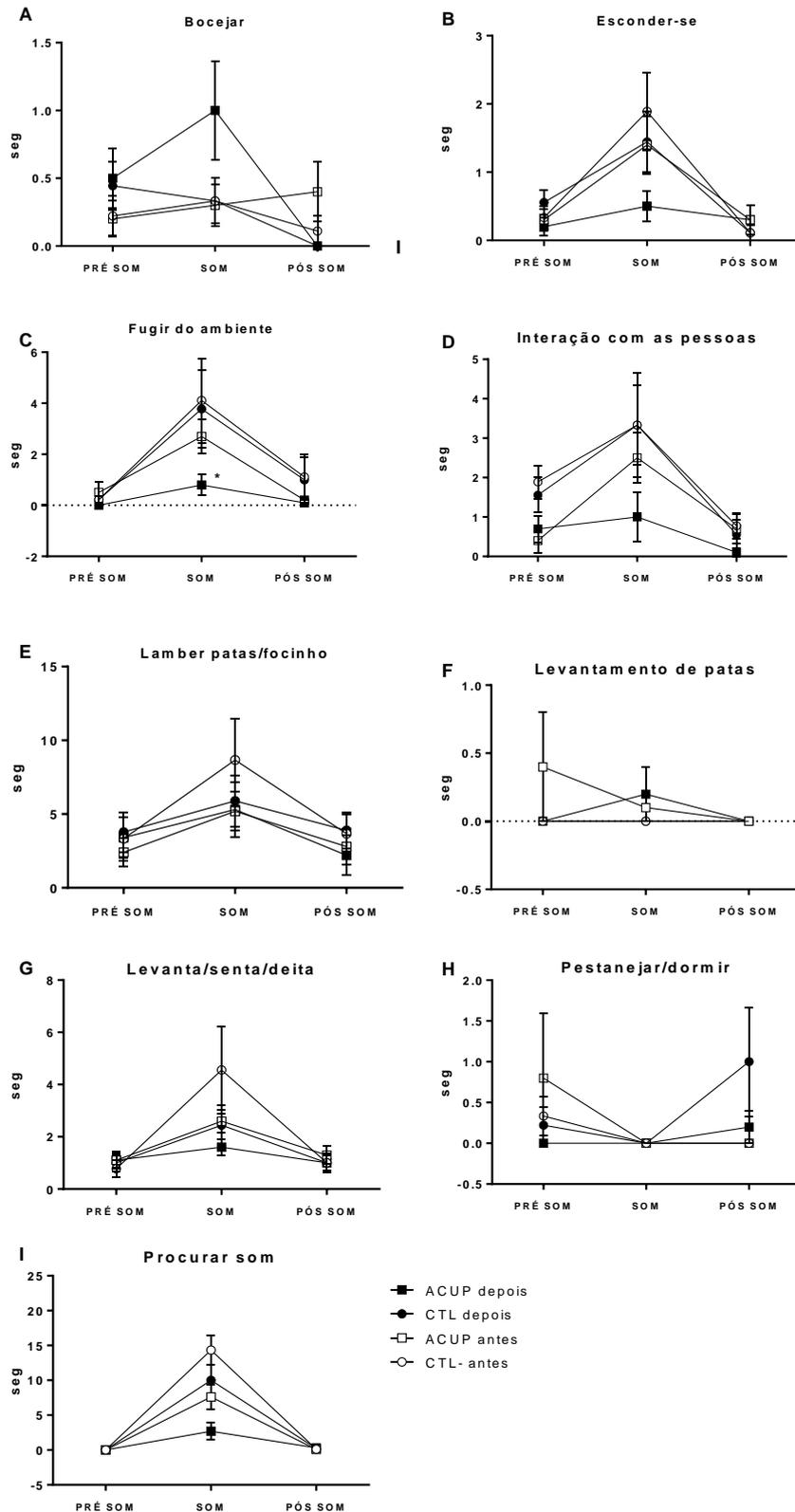


Figura 14: Nove parâmetros (pestanear/dormir, levantamento de patas, procurar som, bocejar, levanta/senta/deita, lamber patas/focinho, interação com as pessoas, fugir do ambiente, esconder-se) foram classificados de forma quantitativa (número de ocorrências) em cães de companhia com histórico de medo exagerado a sons de trovão/fogos de artifício submetidos a um modelo de estresse sonoro. * indica diferença significativa entre ACUP antes e ACUP depois.

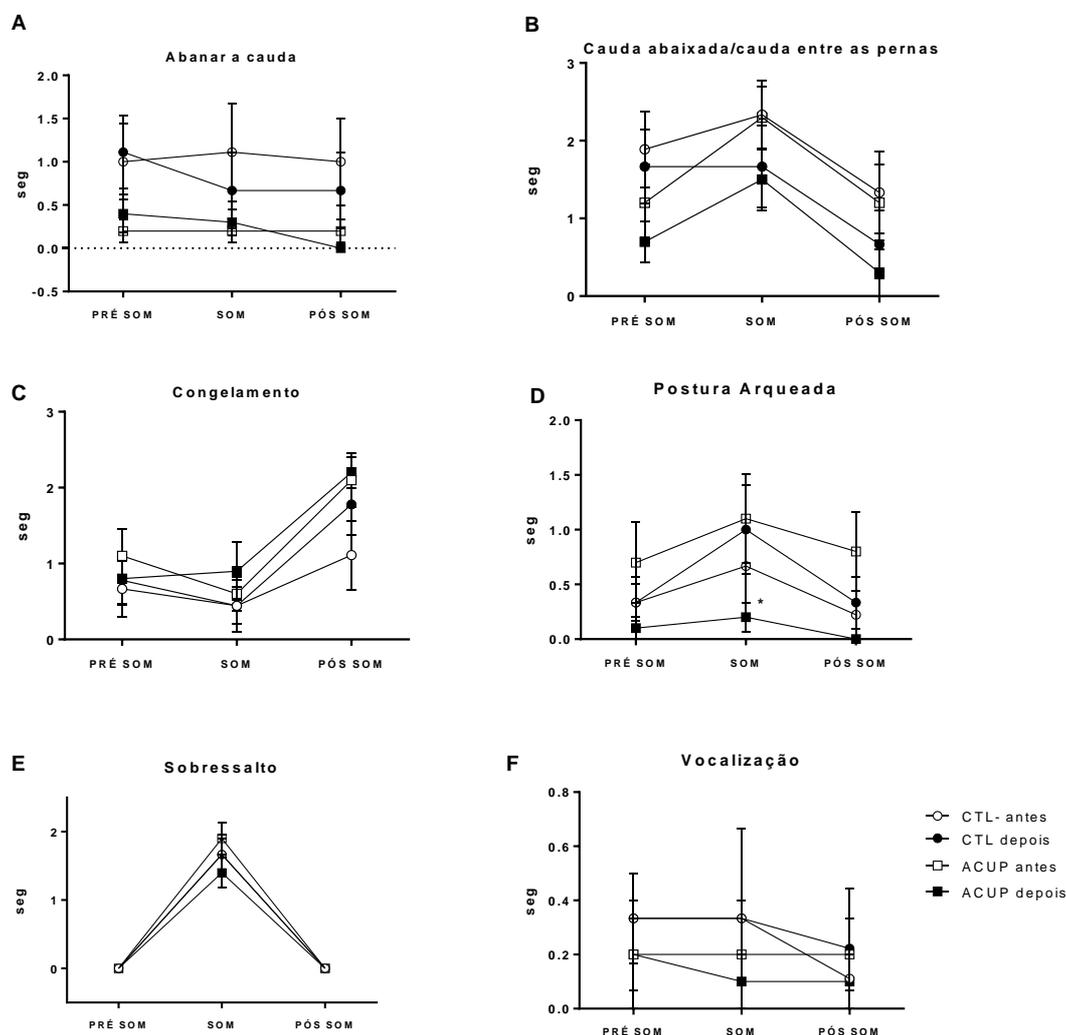


Figura 15: Seis parâmetros (Vocalização, sobressalto, congelamento, postura arqueada, abaixamento e ou cauda entre as pernas, abanar a cauda) observados em cães de companhia com histórico de medo exagerado a sons de trovão/fogos de artifício submetidos a um modelo de estresse sonoro foram classificados de forma semiquantitativa, de acordo com a intensidade de eventos observados numa escala de 4 pontos: 0 = não observado, 1 = resposta leve, 2 = resposta moderada e 3 = resposta intensa. * indica diferença significativa entre ACUP antes e ACUP depois.

4.2. Avaliação do tratamento com acupuntura segundo os tutores, em relação a possível melhora das respostas de medo em cães quando expostos a situações reais de fogos de artifícios.

A tabela 9 compara a melhora observada pelos tutores dos animais dos grupos acupuntura e controle durante (com 4 semanas de tratamento) e após (após 8 semanas) tratamento respectivamente. Podemos notar que durante o tratamento 60% dos tutores dos animais que estavam recebendo acupuntura relataram melhora das reações de medo nos animais, enquanto que 11% dos tutores dos animais do grupo controle relataram melhora. Ao final de 8 semanas de tratamento, 80% dos tutores dos animais que estavam

recebendo acupuntura relataram melhora das reações de medo dos animais, enquanto que 11% dos tutores dos animais do grupo controle relataram melhora (Teste de Fisher durante o tratamento: $p=0.056$; após o tratamento: $p=0.0156$).

Tabela 9: Grupos ACUP e CTL e a melhora durante o tratamento

	CONTROLE	ACUPUNTURA
Melhora durante tratamento	11%	60%
Melhora pós-tratamento	11%	80%

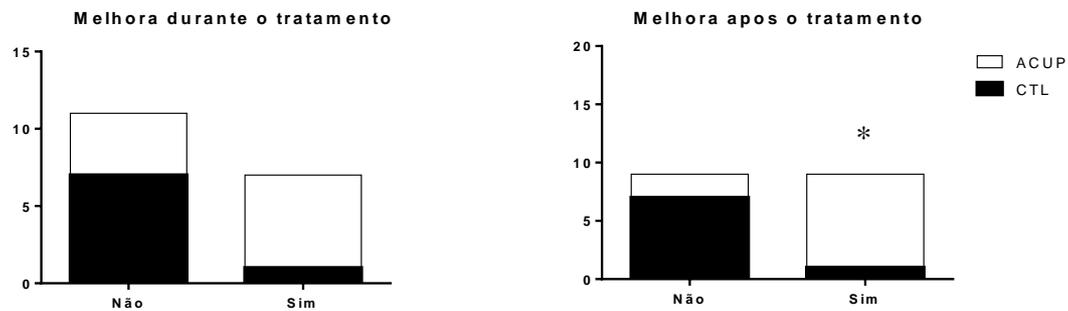


Figura 16: Efeito da acupuntura nas reações de medo de cães com histórico de medo exagerado a sons de trovão/fogos de artifício segundo a percepção dos tutores durante (A) e após o tratamento (B). * indica $p < 0.05$, Teste de Fisher.

5 DISCUSSÃO

Nossos resultados demonstram que o modelo de estresse sonoro (som de fogos de artifício, 103-104 dB com duração de 2 minutos e 30 segundos) promoveu aumento significativo nas repostas de alerta/atenção, caminhar/correr, esconder-se, fugir do ambiente, interação com as pessoas, levanta/senta/deita, procurar som, abaixamento e ou cauda entre as pernas, congelamento e sobressalto em cães de companhia com histórico de medo exagerado a sons de trovão/fogos de artifício, visto que animais com históricos de fobia a sons de fogos de artifícios tem predisposição a aumentar esses parâmetros comportamentais devido ao medo e ao incômodo que esse som provoca, além da associação desse som com uma conotação ruim.

O tratamento com acupuntura semanal durante 8 semanas nos pontos Yintang, VG20, E36, PC6, B52 e C7 promoveu redução da ocorrência dos parâmetros comportamentais caminhar/correr, fugir do ambiente e postura arqueada nestes animais. Portanto podemos constatar que o tratamento por acupuntura foi capaz de reduzir essas respostas que são relacionadas as reações de medo dos cães quando estes foram expostos a situações naturais de fogos/trovões segundo a percepção dos tutores.

As pesquisas das últimas duas décadas referentes ao medo exagerado a sons em cães utilizaram análises comportamentais como a principal forma de avaliar essas reações de medo. Estas pesquisas utilizaram tanto momentos reais de sons de trovão e fogos de artifício como também reprodução sonora através de gravação, como o realizado no presente estudo. Os parâmetros comportamentais foram mensurados por score, avaliando intensidade e frequência, o que torna as medidas pouco específicas, prejudicando a sensibilidade do teste (BRANSON; ROGERS, 2006; CROWELL-DAVIS, 2003; MILLS et al., 2003; MACCARIELLO, 2012; FRANZINI, 2015).

Nesse contexto o presente estudo avaliou uma gama maior de comportamentos utilizando vinte parâmetros comportamentais, divididos em três formas de análise, onde cinco parâmetros (alerta, arfar, caminhar/correr, farejar, tremer) foram classificados de forma quantitativa por tempo de ocorrência em segundos. Nove parâmetros (pestanejar/dormir, levantamento de patas, procurar som, bocejar, levanta/senta/deita, lamber patas/focinho, interação com as pessoas, fugir do ambiente, esconder-se) foram classificados de forma quantitativa em número de ocorrências. E seis parâmetros (vocalização, sobressalto, congelamento, postura arqueada, abaixamento e ou cauda entre as pernas, abanar a cauda) de forma semi quantitativa avaliados de acordo

com a intensidade de eventos observados numa escala de 4 pontos: 0 = não observado, 1 = resposta leve, 2 = resposta moderada e 3 = resposta intensa (MILLS et al., 2003; MACCARIELLO, 2012; FRANZINI, 2015). Ou seja, o presente trabalho representa uma evolução na avaliação de parâmetros comportamentais em cães submetidos ao modelo de estresse sonoro.

Com relação a aplicabilidade do modelo utilizado neste trabalho, podemos listar entre as vantagens a padronização do som a uma intensidade máxima de 103 -104 dB, sendo uma pressão sonora capaz de gerar respostas fisiológicas e comportamentais de estresse em cães, estando abaixo dos limites que poderiam causar danos ao aparelho auditivo (ISING et al., 1999). É um modelo de relativa fácil execução. A avaliação comportamental teve êxito uma vez que os cães se adaptaram bem ao local, não demonstrando alterações significativas no momento pré som. Essa padronização de manejo possibilitou que os animais respondessem livremente ao estímulo sonoro, sem a influência de outros fatores como interações diferenciadas com os proprietários e outros animais. Outra vantagem importante é que a população de estudo é de fácil acesso, uma vez que são animais domésticos de companhia, em geral com temperamento dócil, que apresentam alta casuística de problemas decorrentes do medo exagerado a sons, com ocorrência em ambos os sexos, e diferentes raças, sendo utilizada em várias pesquisas referentes ao medo exagerado a sons (BRANSON; ROGERS, 2006; CROWELL-DAVIS, 2003; OVERALL et. al., 2001).

Com relação aos resultados do efeito do estresse sonoro, verificamos um aumento significativo nas repostas comportamentais de alerta/atenção, caminhar/correr, esconder-se, fugir do ambiente, interação com as pessoas, levanta/senta/deita, procurar som, abaixamento e ou cauda entre as pernas, congelamento e sobressalto, e os parâmetros postura arqueada e lambar patas/focinho apresentaram tendência estatística a aumento ($p=0.056$). Em cães beagles sem histórico de medo exagerado a sons de trovão/fogos de artifício o modelo do estresse sonoro produziu aumento das respostas comportamentais de arfar, se esconder, inquietação, disparada, fugir e sobressalto (MACCARIELLO, 2012). Esta diferença entre os resultados pode ser relacionada a relacionados ao tipo de análise realizada (no presente estudo foi realizada análise quantitativa e no estudo de Maccariello a análise semi-quantitativa) e a características dos animais (animais com histórico de medo exagerado a sons de fogos/trovão no presente estudo e sem medo exagerado a fogos/trovão no estudo de Maccariello).

O tratamento crônico por acupuntura (8 semanas, sessões semanais) foi capaz de reduzir a ocorrência dos parâmetros comportamentais: caminhar/correr, fugir do ambiente e postura arqueada, que são parâmetros que podem se correlacionar a comportamento de medo e de agitação. Estudos anteriores do nosso laboratório mostram que uma sessão de acupuntura nos pontos VG20, *Yintang*, Pc6, C7 e E36 imediatamente antes do estímulo sonoro significativamente reduz a razão LF/HF, FC média e os comportamentos de se esconder, disparada, sobressalto e fugir da sala em cães beagles que não tinham histórico de medo exagerado a sons (MACCARIELLO, 2012). Como discutido anteriormente, estas discrepâncias entre os resultados do tratamento crônico e agudo podem ser relacionados ao tipo de análise realizada, a características dos animais e também a ação aguda da acupuntura (no presente estudo a acupuntura foi realizada cronicamente mas não imediatamente antes do estímulo sonoro e no estudo anterior a acupuntura foi realizada imediatamente antes do estímulo sonoro).

Estudos prévios mostraram que a acupuntura pode reduzir as respostas comportamentais de estresse (KIM et al., 2009; KIM et al., 2011; LU et al., 2013). Liu e colaboradores (2011) utilizou um modelo de estresse crônico imprevisível para induzir depressão em ratos. No grupo tratado com eletroacupuntura nos pontos VG20 e EX17, observou-se a reversão significativa do déficit comportamental induzido pelo modelo de depressão. Estimulação repetida do acuponto PC6 (diariamente por 4 semanas) previniu os efeitos do modelo do estresse crônico imprevisível nos comportamentos relacionados a ansiedade (teste do labirinto em cruz elevado) e a depressão (teste da preferência por sacarose) em ratos (KIM et al., 2009). A estimulação do mesmo acuponto (3 vezes por semana durante 4 semanas) melhorou os déficits de memória induzidos pelo mesmo modelo de estresse em ratos (KIM et al., 2011).

Em relação ao relato dos tutores quanto a melhora do comportamento do cães em resposta a eventos naturais de trovão/fogos, podemos notar que após 8 semanas de tratamento, a melhora observado pelos tutores de cães que estavam recebendo acupuntura foi significativamente maior que dos tutores dos animais do grupo controle. Apesar da limitação experimental em relação ao limitado número de cães e a possíveis vieses da interpretação dos tutores, estes dados são animadores quanto a indicação da acupuntura no tratamento de distúrbios comportamentais em cães. Evidentemente novos estudos são necessários para identificar possíveis mecanismos de ação da acupuntura e confirmar sua eficácia no tratamento da fobia em cães.

6 CONCLUSÕES

- O modelo do estresse sonoro (som de fogos de artifício, 104dB, 150 seg) promoveu um aumento significativo nas repostas de alerta/atenção, caminhar/correr, esconder-se, fugir do ambiente, interação com as pessoas, levanta/senta/deita, procurar som, abaixamento e ou cauda entre as pernas, congelamento e sobressalto em cães com histórico de medo exagerado a sons de fogos de artifício.
- O tratamento por acupuntura (sessões semanais, por 8 semanas, nos pontos Yintang, VG20, E36, PC6, B52 e C7) foi capaz de reduzir significativamente a ocorrência das repostas comportamentais caminhar/correr, fugir do ambiente e postura arqueada induzidas pelo modelo do estresse sonoro.
- O tratamento por acupuntura também produziu uma melhora significativas das reações de medo dos cães quando estes são expostos a situações naturais de fogos/trovões segundo a percepção dos tutores.
- Os dados sugerem que sessões semanais de acupuntura podem reduzir as repostas comportamentais de medo em cães com histórico de medo exagerado a sons e reforçam o uso da acupuntura no tratamento deste distúrbio em cães.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTMAN, S. Acupuncture therapy in small animal practice. **The Compendium on Continuing Education for Practicing Veterinarian**, v.19, n.11, p.1233- 1245, 1997.

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

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

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

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

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

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

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

BEZERRA, E.L & ZIMMERMANN, M, DISTÚRBIOS COMPORTAMENTAIS EM CÃES: Ansiedade por Separação.Brasília - DF, v.2, n. 1, Dez 2015.

BEAVER, Bonnie V, Comportamento canino: um guia para veterinários. São Paulo: Roca, 2001. 425 p.

CAO XD, XU SF, LU WX. Inhibition of sympathetic nervous system by acupuncture. *Acupuncture & electro-therapeutics research* 1983;8:25-35. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6135301>.

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

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

DARWIN, C. **The Expression of Emotions in Man and Animals**. American Edition, 1898. New York: D. Appleton

DRAEHMPAEHL, D., ZOHMANN, A. **Acupuntura no cão e no gato - princípios básicos e prática científica** Editora Roca, 254pag, 1ª edição, 1997.

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

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

FRANZINI, Carla Caroline de Souza. **Respostas autonômicas e comportamentais ao estresse sonoro agudo em cães de companhia com histórico de fobia a sons de trovão e/ou fogos de artifício**. 2015. 105 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

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

SANTOS GODOI T.L.O., VILLAS-BOAS J.D., SOUZA C.C.F., BECK M.M., MOURAG.H.C., LIMA M.T.R. & MEDEIROS M.A. [**Profile of the acupuncture service at the Small Animals Veterinary Hospital of UFRRJ-RJ (2006-2016)**.] Perfil de atendimento por acupuntura no Hospital Veterinário de Pequenos Animais da UFRRJ-RJ (2006-2016). *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(Supl.2):49-56, 2016.

HARADA T, ABE J, SHIOTANI M, HAMADA Y, HORII I. Effect of autonomic nervous function on QT interval in dogs. *The Journal of toxicological sciences*, 2005.

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

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

JAGGAR D. **History and basic introduction to veterinary acupuncture**. **Problems in veterinary medicine** 1992;4:1-11. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1581644>.

JOHNSON EO, KAMILARIS TC, CHROUSOS GP, GOLD PW. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 1992;16:115-130. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1630726>.

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

KIM H, PARK HJ, HAN SM, HAHM DH, LEE HJ, KIM KS, SHIM I. The effects of acupuncture stimulation at PC6 (Neiguan) on chronic mild stress-induced biochemical and behavioral responses. *Neuroscience letters* 2009;460:56-60. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19427367>.

LIAO YY, SETO K, SAITO H, FUJITA M, KAWAKAMI M. Effects of acupuncture on adrenocortical hormone production. (II) Effect of acupuncture on the response of adrenocortical hormone production to stress. *Am J Chin Med* 1980;8:160-166. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7395795>.

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

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

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

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

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

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

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

MIDDLEKAUFF HR, YU JL, HUI K. **Acupuncture effects on reflex responses to mental stress in humans. American journal of physiology Regulatory, integrative**

and comparative physiology 2001;280:R1462-1468. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11294769>.

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

MOREIRA, Helena Isabel Carvalho das Dores. Problemas comportamentais nos animais de companhia. 2011. 123 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2011.

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

Mormède, P.; Andanson, S.; Aupérin, B.; Beerda, B.; Guémené, D.; Malmkvist, J.; Manteca X; Manteuffel, G.; Prunet, B.; Reenen, C.G.; Richard, S.; Veissier, I. Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. **Journal of affective disorders**. V. 91, p.113-124, 2006.

Mormède, P.; Lemaire, V.; Castanon, N.; Dulluc, J.; Laval, M.; LeMoal, M. Multiple neuroendocrine responses to chronic social stress: interaction between individual characteristics and situational factors, **Physiology and Behavior**. V. 47, p. 1099-1105, 1990.

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

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

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

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

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

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

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

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

SCHMIDT A, BIAU S, MOSTL E, BECKER-BIRCK M, MORILLON B, AURICH J, FAURE JM, AURICH C. Changes in cortisol release and heart rate variability in sport horses during long-distance road transport. *Domestic animal endocrinology* 2010;38:179-189. Available at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19962266>.

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

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

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

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

SOARES, Guilherme Marques; PEREIRA, João Telhado; PAIXÃO, Rita Leal. Construção e validação de um questionário para identificação da Síndrome de Ansiedade de Separação em cães domésticos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.3, p.778-784, mai-jun.2009.

SOARES, Guilherme Marques; PEREIRA, João Telhado; PAIXÃO, Rita Leal. Estudo exploratório da síndrome de ansiedade de separação em cães de apartamento. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.40, n.3, p.548-553, mar.2010.

SOARES, Guilherme Marques; SOUZA-DANTAS, Letícia Matos; D'ALMEIDA, José Mario. et al. Epidemiologia de problemas comportamentais em cães no Brasil: inquérito entre médicos veterinários de pequenos animais, *Ciência Rural*, Santa Maria, v.40, n.4, p.873-879, abr.2010.

SOARES, Guilherme Marques; PEREIRA, João Telhado; PAIXÃO, Rita Leal. Avaliação da percepção de proprietários de cães residente sem apartamentos no município de Niterói-RJ sobre os sinais da síndrome de ansiedade de separação em animais. *Archives of Veterinary Science*, Niterói-RJ, v.17, n.2, p.10-17, 2012.

SOUZA, Mariane Machado. Ansiedade de Separação em Cães (*Canis lupus familiaris*). 2009. 21 p. Monografia (curso de Especialização *Lato sensu* em Clínica Médica e Cirúrgica em Pequenos Animais), Universidade Paulista, Juiz de Fora, 2009.

TEIXEIRA, Elsa Palma. Desvios Comportamentais nas Espécies Canina e Felina:

Panorama Actual e Discussão de Casos Clínicos. 2009. 100 p. Dissertação (Mestrado em Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais), UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA, Lisboa, 2009.

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

VILLAS-BOAS, Julia Dias. **Efeito da acupuntura nas respostas de estresse em equinos: testes laboratorial e a campo**. 2013. 78p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013

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

YANG CH, LEE BB, JUNG HS, SHIM I, ROH PU, GOLDEN GT. Effect of electroacupuncture on response to immobilization stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2002;72:847-855. Available at <Go to ISI>://000176990600011.

YAMAMURA ,Y. **Acupuntura-Tradicional :a Arte de Inserir**. Roca, São Paulo. 1993.

ANEXO 1: Termo de Consentimento

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

A- DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE:

- 1) Nome do paciente: _____
- 2) Raça: _____ Pelagem: _____
- 3) Sexo: (M) (F) Castrado? () SIM () NÃO
- 4) Data de Nascimento: ____/____/____.

B- DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO RESPONSÁVEL LEGAL:

- 1) Nome: _____
- 2) Identidade: _____ Sexo: (M) (F)
- 3) Endereço: _____
- Bairro: _____ Cidade: _____
- CEP: _____ Telefone: _____

II – DADOS DA PESQUISA:

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

A- TÍTULO DO PROTOCOLO DA PESQUISA:

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

B- PESQUISADORES:

PESQUISADOR: GIULIS HENRIQUE COELHO – MESTRANDA

PESQUISADORA: MAGDA ALVES MEDEIROS – ORIENTADORA

C- GRAU DE RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO

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

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

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

C - Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade.

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

Mestranda, Med. Vet. Giulia H. Coelho Moura

Prof^aDr^a. Magda Alves Medeiros

Cel: (24) 992360227

Cel: (21) 8222-6869

E-mail: giuliahcoelho@gmail.com

E-mail: magda.medeiros@gmail.com

VI - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

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

Rio de Janeiro, ____ de _____ de 2017.

Assinatura do responsável legal

Assinatura do pesquisador

ANEXO 2: Ficha de avaliação de Fobia

Animal:

Responsável:

Data:

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

ATITUDE DESTRUTIVA

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

ELIMINAÇÃO (urina, fezes)

0	1	2	3	4	5
Pouco			Muito		

VOCALIZAÇÃO: uivo latido lamento

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

SALIVAÇÃO

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

ESCONDER

0	1	2	3	4	5
Poucas vezes			Todo o tempo		

INQUIETAÇÃO

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

ARFAR

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

ANEXO 3: Ficha geral de cadastro

Questionário 2 (pós tratamento por Acupuntura)

1. Nome do cão:
2. Nome do tutor:
3. A qual grupo de tratamento seu cão pertence?
4. Queixa principal, se medo de trovão e/ou fogos de artifício e/ou alarmes e sirenes e/ou voz alta.
5. Com relação ao medo exagerado a sons você observou alguma melhora geral nas reações do seu cão durante os dois meses de tratamento?
6. E após os dois meses de tratamento? E após os dois meses de tratamento?

Descreva em que aspectos ele melhorou, ou não melhorou:

ANEXO 4: Fichageral de cadastro

Identificação animal

- 5) Nome:
- 6) Espécie:
- 7) Raça:
- 8) Pelagem:
- 9) Sexo: (M) (F) Castrado? () SIM () NÃO
- 10) Data da castração:
- 11) Motivo para castração:
- 12) Idade:
- 13) Idade de Obtenção:
- 14) Origem:

Identificação do proprietário:

- 4) Nome:
- 5) Endereço:
- 6) Bairro:
- 7) Cidade:
- 8) CEP:
- 9) Estado:
- 10) Telefone:

Dados familiares:

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

Manejo:

- 1) Onde dorme:
 - 2) Acesso à casa:
 - 3) Acesso à rua:
 - 4) Ambiente:
 - 5) Banho: (freq., local, produtos, etc)
 - 6) Escovação dos pêlos:
 - 7) Dieta:
- Tipo: () Caseira () comercial
- Frequência:
- Quantidade:
- 8) Suplementação: () SIM () NÃO
 - 9) Outros animais:

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

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

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

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

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

Outros? _____

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

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

Houve mudança na rotina da sua casa no último ano?
() Sim () Não

Se sim, qual?

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

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

Porque você escolheu este cão da ninhada? _____

Porque você escolheu esta raça? _____

Você já criou animais antes?

Sim Não Qual(is)?

Antecedentes clínicos:

Algum comportamento mudou após a castração? _____

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

Seu cão já cruzou? Sim Não

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

Qual a idade do 1º cio? _____

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

O seu cão teve outros donos? Sim Não

Quantos? 1 2 3 4 Desconhece

Porque ele foi doado? _____

Quanto tempo você tem este animal? _____

Onde você adquiriu este animal?

Encontrado na rua

Criador/ Canil

Abrigo de animais

Cria da casa

Pet-Shop

Amigo

Outro Qual? _____

Porque você adquiriu este animal

Data da última visita ao veterinário: _____ Motivo: _____

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

Vermifugado? SIM Não

Pulgas? SIM Não Carrapatos? SIM NÃO

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

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

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

Já tentou tratar o problema comportamental? SIM Não

Você permite que seu cão:

Corra livre sem guia na rua

Corra livre no canil/quintal/casa

Andar com coleira

Andar sem coleira com sua supervisão

Só dentro de casa

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

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

Qual tipo de moradia você vive?

Apartamento

Casa na cidade/Condomínio

- Casa com quintal pequeno
- Casa com quintal grande
- Sítio/Fazenda

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

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

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

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

Problema atual:

- 1) Queixa Principal:
- 2) Histórico:

ANEXO 5: Ficha de Protocolo Experimental

Data:		Pesquisadores:							
Experimento:									
Prop.:		Nome:			Idade:		Peso:		Sexo:
Temperamento:									
Exame clínico									
Temperatura:					Mucosas:			Ausculta:	
Otológico:									
Protocolo experimental:									
Basal casa:	Transporte	Chegada	Basalsala	Coleta 2	SOM	Coleta 3	Coleta 4	Coleta 5	Coleta6
Escore comportamental:									
	COMPORTAMENTO	NOTA							
1	Arfar								
2	Tremer								
3	postura de submissão								
4	se esconder								
5	procurar por pessoas								
6	Alerta/atenção								
7	Inquietação								
8	Vocalização								
9	atitude destrutiva								
10	Salivação								
11	Eliminação								
12	Disparada								
13	fugir da sala								
14	Sobressalto								
Escala de quatro notas: 0 = não observado, 1 = observado algumas vezes, 2= observado frequentemente e 3 = observado durante todo o tempo de estímulo									
Observações:									