



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

SCUOLA DI DOTTORATO IN

**RIPRODUZIONE, PRODUZIONE, BENESSERE ANIMALE E SICUREZZA DEGLI
ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE**

Direttore Prof. Giovanni Garippa

INDIRIZZO IN: Riproduzione, Produzione e Benessere Animale (XXII CICLO)

(coordinatore: prof. Sergio Ledda)

VALUTAZIONE DEL BENESSERE IN UN GRUPPO DI CANI CO-TERAPEUTI

Docente Guida:

Dott.ssa Raffaella Cocco

Correlatore:

Dott. ssa Paola Nicolussi

Direttore:

Prof. Giovanni Garippa

Tesi di dottorato del:

Dott. Stefano Visco

ANNO ACCADEMICO 2008 - 2009

I. Sommario

II. INTRODUZIONE:	1
1. Pet Therapy	1
2. Benessere Animale	13
3. Comportamento del cane in caso di stress	45
III. MATERIALI E METODI:	51
IV. RISULTATI:	60
V. DISCUSSIONE :	85
VI. CONCLUSIONI:	95
VII. BIBLIOGRAFIA:	97
VIII. APPENDICE	

II. INTRODUZIONE:

1. Pet Therapy

Il termine anglosassone *pet therapy*, che letteralmente significa terapia con l'animale d'affezione, fu coniato dallo psichiatra infantile *Boris Levinson* il quale osservò, casualmente, che la presenza del suo cane, Jingle, favoriva le sue sedute con un piccolo paziente autistico. Levinson si rese conto di come il bambino, in presenza del cane, fosse più disponibile ad aprire un colloquio con il terapeuta e di come il cane potesse fungere da tramite per ripristinare i contatti sociali.

Da allora, Levinson iniziò a tenere sempre con sé Jingle durante gli incontri con i suoi pazienti e notò che il cane riusciva a “rompere il ghiaccio” in maniera del tutto naturale. La sua presenza ed il suo comportamento facevano defluire le difese dei bambini e il cane diventava sia oggetto di dialogo sia il “canale” di comunicazione tra lo psichiatra e i pazienti, facilitando incredibilmente il reciproco relazionarsi.

Le teorie che andò a sviluppare sono illustrate e verificate nel suo libro “*The Dog as Co-Therapist*”, pubblicato nel 1961, nel quale vengono illustrati i benefici apportati dalla compagnia degli animali.

In realtà l'interesse dell'uomo per questa specie e l'attribuzione della sua importanza, possono essere fatti risalire all'addomesticazione del cane. Questa difatti sembra essere stata la prima specie animale ad aver subito il processo di domesticazione da parte dell'uomo (¹). Il cane è una specie costantemente associata all'uomo in tutti i continenti

ed in tutte le civiltà ⁽¹⁾, gli viene attribuita una grande importanza per la sua determinante influenza sulla specie umana⁽²⁾.

La figura del cane ha sempre avuto una grande importanza per l'uomo, tanto che dai tempi più antichi gli sono stati attribuiti doni magici, curativi, divini.

La prima funzione mitica assegnata al cane è stata quella di accompagnatore delle anime dei morti nell'oltretomba. Questo, ad esempio, era Anubi per gli Egizi, Cerbero per i Greci, T'ien K'uan presso i Cinesi, Gram per i Germani, Xolti presso gli Atzechi. In queste culture, ed in tante altre, il cane aveva l'importante compito di guidare le anime nell'aldilà, tanto è vero che spesso sono state ritrovate nelle tombe di queste civiltà resti umani e di cani. Questi ultimi venivano sacrificati per aiutare il proprio padrone a giungere nel regno dei morti. Nelle civiltà europee il cane incarnava anche altri valori positivi, nella mitologia celtica il cane è legato alla funzione guerriera e indicava grande onore e valore; così come era simbolo di fedeltà assoluta come lo dipinge Omero nell'Odissea.

Per quanto riguarda le capacità guaritrici queste gli venivano attribuite già dagli antichi Greci e Romani, per i quali il cane era sacro ad Asclepio, il dio della medicina (Esculapio nel mondo romano). Anche per quanto riguarda la cultura Cristiana vanno ricordati i cani "Reste" fedele a San Rocco e "il Grigio" di San Giovanni Bosco che protesse il Santo in diverse occasioni.

Oltre alle storie appartenenti alla mitologia e alle credenze popolari magiche, l'azione benefica dell'animale sull'uomo è stata oggetto di numerosi studi. Uno tra i primi ad avere tale intuizione fu il noto psicologo inglese *William Turke* che nel 1972 appurò un miglioramento delle capacità di autocontrollo dei suoi pazienti.

Nel 1942 e nel 1944 in America i soldati che avevano subito traumi psicologici ed emozionali a causa della guerra venivano sottoposti ad una terapia riabilitativa

facendogli prendere cura di animali, ritenendoli mediatori e facilitatori dei processi emozionali (3).

Dopo gli studi di Boris Levinson che, come già riferito, è ritenuto il padre della Pet Therapy, nell'ospedale psichiatrico infantile di Ann Arbor, nel Michigan (1970) venne introdotto un cane di nome "Skeezzer" con lo scopo di aiutare i piccoli pazienti il quale ottenne incoraggianti risultati (3).

Nel 1973 il medico veterinario Ange Condoret, dimostrò come, alla base di alcuni disturbi del linguaggio e della comunicazione, vi fosse una componente affettiva legata all'ansia e allo stress. Il medico, dopo aver sperimentato con successo la *Pet Therapy* in una scuola elementare, dimostrò che affiancare un animale ad un bambino con difficoltà di comunicazione, potesse avere benefici sorprendenti sulla sua psiche e potesse aiutarlo a migliorare la sua comunicazione verbale (4).

Nel 1975, due psichiatri americani, i coniugi Corson, aderirono alle teorie di Lewinson e le applicarono con successo in progetti di "*pet facilitated therapy*" a pazienti adulti con problemi comportamentali.

Risalgono invece al 1977 gli studi della ricercatrice americana Erika Friedmann, la quale osservo che pazienti con problemi cardiaci e possessori di un cane avevano una maggiore aspettativa di vita.

Questi che sono stati elencati possono essere considerati i pionieri della pet therapy che in questi anni ha subito delle importati modifiche sia concettuali che pratiche.

I primi studi sulla pet therapy in Italia si hanno intorno al 1987 quando a Milano viene tenuto il Convegno Interdisciplinare dal titolo "*Il ruolo degli animali nella società moderna*" che ha coinvolto i maggiori esperti di fama internazionale.

Oggi il termine Pet Therapy sta cadendo sempre più in disuso e si preferisce parlare di Attività Assistite dagli Animali (A.A.A.) e Terapie Assistite dagli Animali (T.A.A.). Le

A.A.A. sono tutti quegli interventi di tipo ricreativo che si prefiggono l'obiettivo di migliorare la qualità della vita di persone che si trovano in qualche forma di disagio e/o di avere un ruolo educativo. Tali programmi sono spesso svolti in ospedali, scuole, carceri, ecc., dove l'animale deve essere presente ma non deve necessariamente interagire con il fruitore. In queste attività si cerca di distrarre il soggetto da situazioni stressanti, di rilassarlo e divertirlo. Le attività educative sono invece spesso rivolte alle scuole con lo scopo di insegnare al bambino il rispetto ed il valore della diversità animale.

Più complessi risultano essere i progetti di T.A.A. nei quali invece si cerca un tipo di miglioramento specifico per il fruitore e nel quale l'animale fa parte integrante della terapia svolgendo un ruolo di co-terapeuta. Quindi a differenza delle A.A.A. nelle T.A.A. l'*equipe* è costituita da più professionisti, psichiatra/pedagoga, veterinario, *pet operator*, ognuno avente competenze specifiche. I miglioramenti che solitamente vengono ricercati per il fruitore possono riguardare l'area fisica, l'area emotiva/relazionale, l'area comportamentale, l'area educativa, l'area cognitiva, ecc..

Per quanto riguarda le applicazioni mediche e sociali di questa co-terapia e/o attività assistita dagli animali, sono stati pubblicati numerosi studi in cui sono riportati importanti risultati. Un lavoro del 2008 ha raccolto la bibliografia dei lavori scientifici più rilevanti svolti in quest'ambito dal 1960 al 2007 ⁽⁵⁾. Da questa *review* emergono diversi dati interessanti: è ormai assodato di come la presenza di un cane e/o l'accarezzarlo possa determinare un'abbassamento della pressione sanguigna nell'uomo ^(6,7); l'essere proprietario di un cane può portare a condurre uno stile di vita contraddistinto da una maggiore attività fisica, rispetto a chi non lo possiede, determinando bassi livelli di trigliceridi ematici ed un minor rischio di insorgenza di problemi cardiaci ^(8,9). La presenza di un cane può facilitare le interazioni sociali e far

diminuire i sintomi depressivi ⁽¹⁰⁾ cosa, tra l'altro, particolarmente utile in persone anziane ospedalizzate nelle quali può determinare un miglioramento della qualità della vita ^(11, 12). Nell'*Alzheimer* ⁽¹³⁾ si può assistere ad un aumento dei comportamenti sociali della memoria, dell'umore; nella schizofrenia ⁽¹⁴⁾ può avere un' effetto positivo sull'anedonia e nell'afasia ⁽¹⁵⁾ e quindi si può assistere ad un incremento delle capacità linguistiche⁽¹⁶⁾. Risultati positivi sono stati evidenziati anche in terapie assistite con gli animali rivolte a bambini autistici ⁽¹⁷⁾.

Dai primi studi di Levinson ad oggi la visione dell'animale nell'ottica delle attività e terapie assistite dagli animali ha subito una profonda e significativa evoluzione. Infatti se prima era predominante una cultura di tipo utilitaristico/zootecnico, ove l'animale coinvolto nella pet therapy, sia che fosse un coniglio, piuttosto che un gatto, un cavallo o un cane, veniva "utilizzato" al fine esclusivo di raggiungere il beneficio terapeutico e/o educativo senza una adeguata cura dell'animale né da un punto di vista etologico né di benessere e dando all'animale come tale un misterioso potere curativo. Oggi sono numerosi i gruppi di studio rivolti alla ricerca del benessere degli animali co-terapeuti. Così come si sta diffondendo una cultura zooantropologica che ricerca l'effetto benefico, che può avere l'animale sull'uomo, nella relazione che può svilupparsi e che va ricercata.

La zooantropologia prende origine come scienza descrittiva dell'interazione uomo-animale avvalendosi sia degli studi etologici che antropologici con il fine di ricercare le caratteristiche empiriche e di studiarne le potenzialità applicative. In quest'ottica si può affermare che la zooantropologia intende descrivere e interpretare le basi dell'interazione uomo-animale, investigando i pattern comportamentali di relazione, le evenienze rilevabili durante la fase interattiva, le tipologie di rapporti, il complesso motivazionale che sostiene la relazione uomo animale. Quindi scopo della

zooantropologia è quello di analizzare il rapporto uomo-animale in tutte le sue componenti costitutive, cercando di comprenderne la struttura, i fattori che la regolano, le diverse tipologie riscontrabili nella nostra società, tenendo in considerazione tutte le possibili devianze ed i rischi ad esse connesse (¹⁸). Da quanto detto sin ora, ben si comprende, che questa disciplina non può essere inquadrata in un unico campo ma coinvolge nel suo studio più ambiti disciplinari che vanno dalla filosofia, all'antropologia, all'etologia, alla psicologia, alla medicina veterinaria.

La nascita di questa disciplina può essere fatta risalire tra la fine degli anni '70 e l'inizio degli anni '80 e sono stati numerosi gli studiosi che hanno formulato teorie per spiegare i meccanismi della relazione uomo animale. Tra questi a figura importante è quella di Edward Wilson il quale nella sua teoria sociobiologica sottolineava la biofilia innata dell'uomo ovvero la sua naturale tendenza a mostrare interesse e gradimento, sin dai primi mesi di vita, verso le figure animali rispetto a tutte le altre forme che osservava. Secondo Wilson per la specie umana la semplice osservazione della natura e degli animali produce un piacere intrinseco e innato (¹⁹).

Altra figura di spicco fu l'antropologo Claude Levi-Strauss il quale ebbe la felice intuizione di affermare che per l'uomo l'animale non è buono soltanto da mangiare, ma anche da pensare(²⁰). Si può affermare che con Strauss ha inizio la rivoluzione culturale che porta a riconoscere all'animale una sua identità ed importanza che prescinde dalla sua immediata utilità per l'uomo.

Anche l'antropologo J.P.Digard ed il veterinario James Serpell, rivestono un importante ruolo nella genesi e sviluppo della zooantropologia. Digard definisce l'animale “volano culturale” per l'uomo perché capace di incuriosirlo ed aprire il suo sistema cognitivo ed il suo universo di simboli, dando un ulteriore riconoscimento al valore culturale che l'animale riveste per l'uomo (²⁰). Serpell, direttore del Centro per le interazioni degli

animali e della società (CIAS), ha dato un nuovo punto di vista sulla *pet-relationship*, ipotizzando che la propensione umana ad elargire cure parentali anche nei confronti di altre specie, sarebbe stata sfruttata dagli animali domestici attraverso una sorta di “parassitismo delle cure parentali”, fonte di grandi vantaggi per la loro sopravvivenza, e che avrebbe fatto permanere i caratteri più idonei ad indurre questo accudimento (20) e tale ipotesi viene definita “dell’inganno parenterale”.

In Italia una figura di riferimento in questo campo è sicuramente quella di Roberto Marchesini, ideatore della “teoria della zootropia” che pone un limite netto rispetto alle precedenti ipotesi che cercano di spiegare il rapporto “uomo-animale”. Il modello esplicativo adottato da Marchesini, come cita l’autore, “modifica radicalmente il modo di valutare la natura referenziale dell’animale, che da parassita etologico o da oggetto di conoscenza, diventa promotore/partner nei processi culturali e nelle espressioni sottese”. Questa teoria assegna un contenuto dialogico (non strumentale e non subito/imposto) al rapporto che l’uomo instaura con l’alterità animale(18).

A questo punto è di fondamentale importanza approfondire il concetto di approccio zooantropologico alla *pet therapy* in quanto rappresenta un *modus operandi* che nel nostro lavoro abbiamo concretizzato non solo da un punto di vista teorico ma soprattutto pratico. Più precisamente l’approccio da noi utilizzato può essere definito *cognitivo zooantropologico*, per approfondimenti a tale concetto rimando alle pagine successive.

Prima dell’avvento dell’approccio zooantropologico alla *pet therapy*, e spesso nella visione collettiva, questa co-terapia è stata analizzata sotto due ottiche: una *generalista*, nella quale il soggetto animale co-terapeuta “fa sempre bene” indipendentemente dai bisogni del fruitore; l’altra *conseguenzialista*, che si focalizza sugli effetti benefici che questa determina, senza porre domande su come ci si arrivi. Appare ovvio come questi

approcci non possano essere considerati validi ed accettati da un punto di vista della ricerca scientifica in quanto rende nulli alcuni suoi fondamenti imprescindibili di verificabilità e riproducibilità. L'approccio zooantropologico cerca di dare delle risposte su cosa determini un certo effetto benefico, su come lo si realizzi e quali sono le componenti da valutare e modificare a seconda degli obiettivi da raggiungere. Secondo tale approccio, la natura dell'effetto benefico è data da un contributo esterno che favorisce un cambiamento nella persona e questo si realizza grazie alla relazione che si instaura con l'animale. Modificando le caratteristiche della relazione mutano i cambiamenti nella persona. In altre parole, è la relazione con l'animale che determina un percorso di cambiamento (assistenziale o terapeutico) che ha come scopo quello di raggiungere degli obiettivi benefici per quel paziente; il percorso di cambiamento si realizza quindi in virtù di contributi esterni di ordine relazionale che vengono definiti referenze ⁽²¹⁾. Da ciò si desume che la zooantropologia si discosta nettamente dalla visione zootecnica della *pet therapy*, in cui l'animale è considerato un mezzo e un produttore di una *performance*. A questo punto è doveroso dare una definizione del termine "relazione" e quindi chiarire come questa possa realizzarsi e quali caratteristiche deve avere per essere tale. Il rapporto relazionale che si sviluppa con l'eterospecifico avrà dei connotati particolari in quanto le coordinate dialogiche saranno particolari e rappresenteranno il primo ostacolo da affrontare e risolvere ed offriranno dei contributi non riscontrabili in altri tipi di relazione. L'animale in tal modo si può porre nei confronti dell'uomo come referente espressivo e formativo se la relazione con questo viene salvaguardata e non viene fatta cadere nella banalizzazione e antropomorfizzazione. Per usare le parole di Marchesini possiamo dire che " parlando di relazione, il suo aspetto caratterizzante sta nel dar vita ad un processo dialogico che modifica lo stato espressivo e biografico del soggetto; nella relazione cioè, al contrario

di altri eventi di interfaccia, il soggetto si mette in discussione, apre le sue soglie identitarie e quindi riceve contributi dalla controparte (referenze) che gli consentono di portare in superficie alcuni aspetti di Sé (funzione espressiva) e di intraprendere un percorso di cambiamento (funzione formativa). Questo significa che la relazione è un evento molto importante nella vita della persona e, di conseguenza, richiede particolari attenzioni perché, a seconda dell'effetto referenziale che produce, può avere un effetto benefico ma anche compromissorio .”(21). Inoltre in questa relazione deve esserci da parte dell'uomo il riconoscimento dell'eterospecifico come referente e deve verificarsi l'accreditamento di quest'ultimo come tale. Tra i due interlocutori potrà così attuarsi un interscambio , divenendo in tal modo referenti l'uno per l'altro e dove il piano di dialogo produce specifici percorsi di cambiamento per la formazione e l'espressione di entrambi i partecipanti. Le basi del rapporto con l'eterospecifico saranno rappresentate da attività condivise. In una seduta di *pet therapy* deve essere promossa, favorita e guidata la relazione con l'animale.

Altro punto cardine della visione zooantropologica alle attività e terapie assistite dagli animali è quello di valorizzare il rapporto con l'animale, ponendo pari dignità alla diversità senza cadere nella tentazione di antropomorfizzarlo, tanto meno di considerarlo come un subordinato. Per questo motivo ovviamente sia gli operatori che i fruitori dovranno essere istruiti in modo tale da rispettare le caratteristiche etologiche e comunicative dell'animale. In questo modo si accrescerà l'empatia del soggetto verso l'animale referente. Come già accennato in precedenza, durante le sedute di *pet therapy* l'instaurarsi della relazione non sarà lasciata alla casualità o alla spontaneità (anche se alcune dimensioni relazionali spontanee, se corrette, saranno tollerate), ma sarà attentamente studiata e guidata dallo staff operativo; infatti se si lascia che la relazione si sviluppi in modo spontaneo, sarà molto più probabile che questa assuma

configurazioni problematiche e dannose, ad esempio uno schizofrenico tenderà a fare giochi di finzione, un bambino iperattivo quelli eccitatori.

Da quanto detto sin ora si nota chiaramente come nessuna seduta di *pet therapy* si svolga in modo casuale, ma tutto è ben guidato e programmato. Allo stesso modo l'animale che volge il ruolo di coterapeuta (nel nostro caso specifico il cane) non viene inserito nelle sedute impreparato, ma solo dopo avere seguito un percorso educativo ed istruttivo tale da permettergli di svolgere il ruolo di referente. Qualora fosse necessario può fungere da facilitatore nell'instaurarsi della relazione cane-fruitori. A parer nostro l'approccio migliore per la preparazione del cane nelle attività e terapie assistite con gli animali risulta essere quello che precedentemente abbiamo definito Cognitivo Relazionale.

Per preparare il cane ad una vita da coterapeuta è necessario seguire un percorso pedagogico, intendendo con questo la crescita armonica delle diverse componenti cognitive del soggetto. L'impostazione pedagogica si differenzia dall'addestramento non solo perché persegue fini differenti, si sviluppa con metodologie diverse, parte da una opposta valutazione del rapporto con il cane, ma perché in senso complessivo tratta un altro processo; l'addestramento è un modo per configurare l'animale secondo canoni di utilizzo, vale a dire interpreta il rapporto uomo-animale come una fruizione del secondo da parte del primo e per far questo vuole che il cane assomigli il più possibile ad una macchina (controllabile, inibita, standardizzata nelle prestazioni). La pedagogia si propone di rafforzare il soggetto e metterlo nelle migliori condizioni per correlare le proprie caratteristiche con le sfide che dovrà affrontare; parte dalle caratteristiche del cane e ha l'obiettivo di sviluppare il suo profilo in modo coerente, correlato e competente in una logica di integrazione al contesto di vita. La pedagogia arricchisce la mente del cane lavorando sulla formazione del carattere (educazione), delle conoscenze

(istruzione), delle competenze (abilitazione). La pedagogia si preoccupa di organizzare lo sviluppo del soggetto in modo da metterlo nelle migliori condizioni per affrontare il suo contesto. Il nostro lavoro quindi si basa sull'educazione, sull'abilitazione, sull'istruzione del cane, non sull'addestramento in senso classico.

Con il termine istruzione, secondo l'approccio cognitivo si intende dare al cane gli strumenti che rafforzano le attività e la flessibilità cognitiva, al fine di dare strumenti elaborativi ed esperienziali utili alla vita del cane. L'abilitazione consiste nel dare al cane una serie di capacità complesse di intervento sulla realtà e pertanto sono il frutto di attività di sintesi cognitiva; la preparazione si basa sulla relazione con il *partner* e quindi sullo sviluppo della collaborazione e dell'empatia.

Secondo la nostra esperienza non esistono delle razze particolari, ma è indispensabile che siano dei cani che non abbiano mai avuto atteggiamenti aggressivi nei confronti dell'uomo e che abbiano svolto un periodo di socializzazione primaria e secondaria corretto. Il cucciolo dovrebbe restare con la madre e con gli altri cuccioli sino ai due mesi di vita e durante questi primi mesi e nei successivi, bisogna favorire le nuove esperienze preservandolo da eventi traumatici. Dopo questa fase inizia quella di preparazione vera e propria: infatti nelle attività e terapie assistite con gli animali l'interazione eterospecifico e uomo è molto elevata e quindi richiede da parte del cane un grado di socializzazione, educazione e preparazione adeguati.

La comunicazione del cane si basa soprattutto su stimoli olfattivi e posturali, e pur non avendo affinato capacità verbali, questo è capace di imparare un gran numero di vocaboli e rispondere in modo adeguato a richieste specifiche.

Secondo la teoria cognitiva le capacità di apprendere dipendono dalle intenzioni del soggetto e dalla conseguenza del suo comportamento. L'apprendimento è subordinato

alle motivazioni interne del soggetto e può essere ricostruito sul bagaglio esperienziale in uno schema dinamico che può essere riconfigurato in qualsiasi momento. ⁽²²⁾.

2. Benessere Animale

Il concetto di benessere animale ha acquisito nel corso degli anni un significato importantissimo tanto che oggi, anche dal punto di vista legislativo è divenuto un punto fondamentale della zootecnia moderna.

Attualmente, quando si parla di benessere animale si fa riferimento a quella condizione di equilibrio psicofisico che garantisce un buono stato di salute ed in cui l'animale è in grado di esprimere i comportamenti tipici della specie e di adattarsi ai cambiamenti ambientali. Fino agli anni '80 però il benessere animale era inteso come "assenza di malattia" e l'insieme di fattori esterni necessari a garantire la più alta produttività degli animali da reddito.

Le prime definizioni di benessere animale furono quelle di Hughes, che nel 1976 parlò di benessere animale come di uno stato di salute completa, sia fisica che mentale, in cui l'animale è in armonia con il suo ambiente; Broom (1986) lo definì uno stato in cui l'animale si relaziona, in base ai suoi tentativi di adattarsi all'ambiente.

Tuttavia la nascita dell'interesse scientifico per il benessere animale risale al 1965 quando in Inghilterra fu pubblicato il *Brambell Report*. Questo rapporto fu commissionato dal governo Inglese dopo il clamore suscitato dall'uscita del libro di Ruth Harrison "*Animal Machine*"⁽²³⁾, dove venivano denunciate le pessime condizioni di vita degli animali allevati. Il *Brambell Report* ha il grande merito di essere stato il primo documento scientifico sull'argomento e di aver enunciato le "cinque libertà" per la tutela del benessere animale:

- 1) Libertà dalla fame, dalla sete e dalla malnutrizione, mediante facile accesso ad acqua fresca e pulita, ad un'alimentazione appropriata alla specie, allo stato fisiologico ed all'età dell'animale, in grado di garantirne salute e vigore fisico.
- 2) Libertà dal disagio, mediante la predisposizione di un'ambiente appropriato alla specie, con adeguati ripari in grado di proteggere anche da condizioni climatiche avverse.
- 3) Libertà da dolore, ferite e malattie, mediante prevenzione, rapida diagnosi e trattamento, garantito da un servizio veterinario adeguato.
- 4) Libertà di manifestare le caratteristiche comportamentali specie-specifiche normali, fornendo spazio sufficiente, locali appropriati e la compagnia di altri soggetti della stessa specie, in modo da favorire i contatti sociali.
- 5) Libertà da paura ed angoscia, assicurando condizioni di vita e trattamenti che evitino sofferenza fisica e mentale.

In Europa il primo atto legislativo comunitario, ispirato dal *Brabell Report* risale al 1974 quando fu emanata la Direttiva 74/577/CEE che riguardava la protezione del benessere degli animali al momento della macellazione (²⁴).

Altra tappa importante per la salvaguardia e la tutela legislativa del benessere animale è rappresentata dal trattato di Amsterdam, emanato nel 1997, il quale riconosce gli animali come esseri senzienti. Quest'ultimo è stato recentemente ripreso dal trattato di Lisbona (firmato a Lisbona il 13 Dicembre 2007) che rafforza l'impegno degli stati membri sulla tutela degli animali e sulle relative politiche.

Le suddette leggi riguardano soprattutto il benessere degli animali allevati a scopo alimentare. Diversamente, per quanto riguarda la tutela degli animali d'affezione, l'interesse è minore. Per la tutela del benessere degli animali coinvolti in programmi di *pet therapy*, in Italia, è stato emanato un decreto (pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale N.52 del 4 Marzo 2003) che vincola lo Stato e le Regioni ad impegnarsi "ciascuno per

le proprie competenze, a promuovere iniziative rivolte a favorire una corretta convivenza tra le persone e gli animali da compagnia, nel rispetto delle esigenze sanitarie, ambientali e del benessere degli animali”. Nell’articolo 9, riferito alla pet therapy, si incoraggia l’introduzione degli animali da compagnia nelle strutture residenziali e negli istituti di cura per anziani e bambini, e si invitano le Regioni a impegnarsi per garantire l’accesso e l’accoglienza temporanea di cani, gatti e altri animali da compagnia in tutti i luoghi pubblici, anche sui mezzi di trasporto sia nei centri turistici che negli stabilimenti balneari.

Prima ancora, nel 2002 veniva pubblicato un documento chiamato “Carta Modena” che pone le basi per una corretta visione del rapporto uomo-animale e cerca di definire quali siano i principi ed i valori della *pet relationship*. “Carta Modena”, composto da ventitre articoli, nasce con l’obiettivo di regolamentare in modo più dettagliato questa disciplina. L’articolo 2, per esempio, indica come preservare le valenze emozionali, cognitive, formative, assistenziali e terapeutiche che l’interazione uomo-animale fornisce: per fare ciò è necessario che tale rapporto sia equilibrato e consapevole e sia caratterizzato da reciprocità e corretta espressione etologica nel rispetto delle specifiche individualità. Di grande interesse sono gli articoli 6 e 10: nel primo si sottolinea l’importanza della scelta dell’animale cooperatore in base alle sue caratteristiche di specie ed individuali, fisiologiche e comportamentali che devono risultare compatibili con gli obiettivi del progetto; il secondo, partendo da questi presupposti, propone la realizzazione di un programma educativo e di istruzione che valorizzi le potenzialità cognitive dell’animale e che ne salvaguardi il benessere psicofisico. Il buono stato di salute psicofisico e funzionale, recita l’articolo 8, va costantemente monitorato e garantito in tutte le fasi applicative focalizzando l’attenzione sulla presenza di eventuali situazioni di stress derivanti dal lavoro. Gli articoli dal 15 al 19 e l’articolo 21 spiegano

in modo preciso da chi deve essere seguito tale progetto e quali siano i compiti: un team prescrittivo, composto da diverse figure professionali (psicologo/neuropsichiatra, medico veterinario/biologo con formazione ed esperienza nelle scienze comportamentali, operatore tecnico con specifica preparazione) avrà l'incarico di valutare costantemente l'interazione ed i suoi effetti sul partner, salvaguardare il benessere psicofisico dell'animale cooperatore e il benessere del fruitore. Questo documento, patrocinato anche dal Ministero della Salute, è seguito e trova d'accordo un gran numero di associazioni ed università che si occupano di attività e terapie assistite dagli animali. Per noi la relazione non può essere guidata né dall'operatore né dal *referee* di *pet-therapy*, ma dalla figura di riferimento; così come il veterinario non può essere presente solo nella fase prescrittiva, ma deve esserlo durante lo svolgimento di tutte le sedute perché è lui il garante della salute e del benessere animale.

Oggi il benessere animale è considerato come una scienza che si occupa dello stato di salute globale dell'animale, che è intesa come l'insieme delle condizioni psichiche e fisiche necessarie agli animali per vivere in completa armonia con il proprio ambiente. Da questa definizione si intuisce che la valutazione del benessere coinvolge una serie di discipline come l'etologia, la fisiologia, la genetica e la psiconeuroendocrinologia (disciplina che sintetizza le relazioni esistenti tra sistema nervoso, sistema neuroendocrino e sistema immunitario) le quali, integrandosi fra loro, consentono di descrivere i diversi aspetti che riguardano l'interazione degli animali con il proprio ambiente.

La capacità da parte dell'uomo di misurare il benessere, rappresenta sicuramente un campo di studio molto importante ed attuale in quanto gli indicatori da considerare sono molti. Le misurazioni da esaminare possono essere di difficile interpretazione e possono avere una scarsa reperibilità. C'è inoltre la possibilità che subiscano variazioni in

maniera significativa da soggetto a soggetto in quanto, a parità di condizioni ambientali e di management, alcuni animali sembrano adattarsi meglio e più rapidamente a situazioni stressanti rispetto ad altri evidenziando così differenze individuali di sensibilità allo stress.

Gli studi fatti sino ad oggi hanno evidenziato come l'organismo risponda alle varie situazioni ambientali non solo tramite cambiamenti comportamentali, primi e precoci segni di adattamento, ma anche con cambiamenti organici che possono indurre variazioni nell'attività cardiaca, nelle concentrazioni ormonali ematiche, o nel sistema immunitario. Queste possono avere ripercussioni sullo stato di salute, sull'accrescimento e sulle capacità riproduttive del soggetto. Ogni variazione ambientale, quindi, va a costituire per l'animale uno stress al quale egli reagisce con meccanismi comportamentali e organici per ripristinare la propria omeostasi; quando ciò non si realizza si possono manifestare i sintomi tipici dello stress acuto e, se il disagio persiste, quelli dello stress cronico.

Possiamo definire come “stressor” un qualsiasi fattore che determina una modificazione della normale omeostasi di un soggetto e al quale esso reagisce mettendo in atto una serie di risposte comportamentali e/o organiche che hanno come obiettivo quello di ristabilirla; qualora questo non si verificasse viene meno il benessere del soggetto e un conseguente stato patologico che può essere più o meno grave. Viene definito “stressor” lo stimolo che conduce l'organismo e la psiche allo stress, indipendentemente dal fatto che questo sia di natura fisico (elettrico, chimico, termico), ambientale (ad esempio, ambiente sconosciuto, costrizione, pericolo imminente) o sociale (ad esempio: comportamento di conspecifici, sovraffollamento, isolamento). A questo proposito risulta essere particolarmente interessante un recente studio che ha messo in evidenza come a seconda del tipo di stressor varia a livello encefalico il

meccanismo di attivazione del sistema di controllo dello stress, in particolar modo della regolazione della secrezione di cortisolo in risposta allo stress ⁽²⁵⁾. Ad esempio uno stressor reattivo, che può essere rappresentato da uno stimolo sensoriale reale (come ad esempio un dolore, un danno fisico, problemi immunitari del soggetto) tende ad attivare il midollo allungato, e più in particolare, specifici nuclei ipotalamici e il nucleo della stria terminale (BNST) che hanno connessioni dirette con il nucleo paraventricolare ipotalamico (PVN) ⁽²⁶⁾. Mentre gli stressor anticipatori, che sono quelli scatenati da reazioni innate o legate alla memoria (come ad esempio conflitti sociali o situazioni sconosciute), attivano principalmente regioni del sistema limbico, quali l'ippocampo, l'amigdala e l'area mediale della corteccia pre-frontale ⁽²⁶⁾.

Hans Selye fu uno dei primi studiosi che concentrò le sue attenzioni sulla scoperta dei meccanismi che l'organismo mette in atto se sottoposto ad un evento stressante ⁽²⁷⁾. Secondo il medico ungherese, l'organismo mette in atto una “sindrome generale di adattamento” nella quale possiamo riconoscere tre fasi: una fase di allarme, che è la prima reazione che l'organismo aziona appena percepisce l'evento stressante; una fase di resistenza, in cui cerca di adattarsi alle nuove condizioni e di ristabilire una situazione di equilibrio; una fase di esaurimento o di collasso, che nasce con il persistere dell'evento stressante che rende l'individuo incapace di reagire e che può portarlo ad un grado di indebolimento tale da favorire anche la comparsa di malattie infettive e/o organiche talmente gravi da poter avere, addirittura, un esito infausto ⁽²⁸⁾.

Seppur tutt'altro che recente, questa teoria, ideata nel 1936, è valida ancora oggi. Ognuna delle fasi di cui essa è composta, è caratterizzata da modificazioni nervose, ormonali ed umorali che ne spiegano le conseguenze comportamentali e cliniche che noi osserviamo. Recentemente è stato introdotto anche il concetto di omeostasi. Lo stato omeostatico è uno stato di attività fisiologica alterata, sostenuta dai cosiddetti “mediatori

dell'allostasi" che integrano la fisiologia e i comportamenti associati, in risposta ai cambiamenti dell'ambiente. In parole semplici, questa alterata attività ha lo scopo di mantenere la "normalità" dei sistemi fisiologici in risposta al cambiamento della situazione ambientale. Una volta che tale attivazione raggiunge un nuovo livello di adattamento, l'organismo esce dallo stato allostatico. Lo stato allostatico può essere mantenuto per brevi periodi con risultati adattivi (carico allostatico) oppure diventare cronico e portare a malattie (sovraccarico allostatico) ⁽²⁹⁾. Si può dire che lo stato allostatico corrisponda alla fase di allarme della sindrome generale di adattamento di Selye.

Durante la fase di allarme si ha un acutizzarsi dello stato di vigilanza, un aumento della frequenza cardiaca e respiratoria, fenomeni di vasodilatazione e vasocostrizione localizzati, che fanno in modo che il sangue venga ridiretto dove è maggiormente richiesto, ovvero verso il cervello, i muscoli scheletrici, il cuore ⁽³⁰⁾. In questa fase si assiste ad un aumento generale dei processi metabolici, lipolisi e glicolisi, in modo tale da fornire all'organismo energia a sufficienza per affrontare la situazione. L'organismo si prepara cioè a quella situazione che viene spesso definita del "lotta o fuggi". Questi meccanismi adattativi vengono determinati da una parte dall'attivazione del sistema nervoso vegetativo simpatico (con la liberazione di adrenalina e noradrenalina), delle terminazioni nervose post gangliari e dalla midollare del surrene, dall'altra dall'attivazione dell'asse Ipotalamo-Ipofisi-Surrene che determina il rilascio di glucocorticoidi da parte della corticale del surrene. Queste due vie tuttavia non sono completamente distinte fra loro: la produzione di ormone corticotropo (CRH) da parte dell'ipotalamo, infatti, oltre a stimolare l'adenoipofisi a produrre l'ormone adrenocorticotropo (ACTH), che a sua volta andrà a determinare il rilascio di glucocorticoidi da parte della corticale del surrene, determina anche un aumento della

concentrazione ematica di catecolamine, che agiranno poi da neurotrasmettitori a livello dell'amigdala e dell'ipotalamo, che sono delle importanti zone cerebrali coinvolte nei processi di elaborazione della potenziale pericolosità dello stimolo stressogeno ⁽³¹⁾. In particolar modo esistono delle strettissime correlazioni tra il centro nervoso dello stress e l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. La stazione centrale di controllo del sistema dello stress è localizzata nell'ipotalamo e nel tronco encefalico ed include neuroni parvocellulari, produttori di CRH, neuroni produttori dell'ormone arginina vasopressina (AVP), che si trovano nei nuclei paraventricolari dell'ipotalamo, ed il sistema locus ceruleus/noradrenalina (LC/NE); mentre gli effettori di questo sistema sono rappresentati dall'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e dal sistema simpatico/adrenomidollare e vengono attivati in seguito ad uno stimolo stressogeno ⁽³²⁾. Il locus ceruleus, insieme ad altri gruppi di cellule noradrenergiche del midollo allungato e del ponte, sono collettivamente conosciute come il già citato sistema locus ceruleus/noradrenalina (LC/NE). La noradrenalina encefalica serve globalmente come sistema d'allarme che va a determinare una diminuzione delle funzioni neurovegetative, quali mangiare e dormire, contribuendo ad aumentare le risposte del sistema nervoso autonomo e neuroendocrine allo stress, compresa l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene ⁽³³⁾. La noradrenalina inoltre attiva l'amigdala e accentua l'immagazzinamento, a lungo termine, dei ricordi legati ad esperienze negative in siti specifici quali l'ippocampo e lo striato ⁽³²⁾. Allo stesso tempo questo neurotrasmettitore esercita un *feedback* negativo sul giro cingolato anteriore (ACG). Se i meccanismi di *feedback* sono troppo intensi e prolungati, l'encefalo entra in uno stato di disfunzionalità; infatti mentre l'attività dell'amigdala aumenta a causa del *feedback* positivo svolto dalla noradrenalina, lo stesso neurotrasmettitore va a svolgere un'azione

feedback negativa sulla funzione del ACG, che normalmente inibisce e riduce le emozioni dell'amigdala, la quale di conseguenza non è più controllata (³⁴).

Per quanto riguarda l'importanza del ruolo dell'ippocampo nella risposta allo stress, è in gran parte dovuta alla secrezione, da parte di questo, del fattore di rilascio della corticotropina (CRH). Quest'ormone svolge un ruolo fondamentale nella risposta fisiologica, organica e comportamentale, allo stress; infatti da inizio ad una serie di eventi che hanno come risultato finale quello di attivare l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (³⁵). Una ricerca ha messo in evidenza che se il CRH viene infuso a livello cerebrale, in dei ratti, gli determina dei comportamenti tipici dello stress (³⁶). La scoperta di questo studio fu in seguito confermata da studi farmacologici (^{37,38,39}) e genetici (⁴⁰). Il CRH una volta secreto, in pochissimo tempo giunge a livello dell'adenoipofisi, determinando così la secrezione dell'ormone adrenocorticotropo (ACTH). L'ACTH, a sua volta, una volta immesso nella circolazione ematica sistemica giunge a livello della corticale del surrene, dove nel giro di pochi minuti, stimola il rilascio nel sangue di glucocorticoidi, tra cui il cortisolo. Quest'ultimo va ad agire sull'ipofisi, inibendone la secrezione di ACTH (*feedback* corto), sull'ipotalamo andando a contrastare il rilascio di CRH (*feedback* lungo) (⁴¹) e su se stesso (*feed back* extracorto). Oltre a questi meccanismi inibitori ve ne sono altri come quello esercitato dall'ACTH sui neuroni peptinergici ipotalamici, i quali secernono CRH (*feedback* ultra corto) e quello che l'ACTH esercita su se stesso (*auto feedback*) (⁴²). Questi meccanismi inibitori hanno il ruolo molto importante di limitare l'esposizione dell'organismo a concentrazioni eccessive e prolungate di glucocorticoidi, infatti questi ormoni potrebbero provocare conseguenze dannose per l'organismo, legate soprattutto a effetti catabolici e immunosoppressivi. L'attività secretoria di CRH ipotalamica è regolata anche da impulsi nervosi provenienti

dall'ippocampo e dall'amigdala che in seguito ad un evento stressogeno inviano impulsi all'ipotalamo tramite fibre nervose adrenergiche e, in parte, dopaminergiche ⁽³¹⁾.

Anche l'amigdala risulta avere un ruolo chiave nei meccanismi di risposta, organici e comportamentali, a eventi stressanti. L'amigdala non è distinguibile a livello macroscopico nell'encefalo ma è generalmente considerata come un'insieme di distinte sub-aree e nuclei. E' possibile distinguere una regione cortico mediale che include il nucleo corticale, mediale e centrale ed una regione baso-laterale costituita dal nucleo basale laterale. Queste ricevono informazioni sia dalla neocorteccia di tutti i lobi cerebrali sia dal talamo che conduce *input* sensoriali (uditivi, visivi, gustativi e tattili). In particolar modo il nucleo laterale rappresenta l'ingresso sensoriale nell'amigdala; il nucleo centrale è invece considerato un'importante regione afferente, almeno per quanto riguarda l'espressione delle risposte alle emozioni innate e delle risposte ad esse associate. Numerosi sono stati gli studi riguardanti il ruolo di questa struttura nervosa con stati emozionali quali la paura e i comportamenti ad essa associati. Altri stati emotivi nei quali è coinvolta l'amigdala sono, per citarne alcune, l'aggressività, i comportamenti materno, sessuale ed ingestivo (mangiare e bere). Inoltre questa è coinvolta in funzioni cognitive quali l'attenzione, la partecipazione e la memoria esplicita, ovvero la memoria coinvolta nel pensiero conscio ⁽⁴³⁾. L'amigdala agisce quindi sull'asse ipotalamo-ipofisi-surrenale, attivandolo, dopo che l'informazione sensoriale è stata da essa analizzata e inviata al nucleo centrale ⁽³¹⁾. Quindi, riassumendo, mentre il nucleo laterale è l'ingresso sensoriale dell'amigdala, al nucleo centrale spetta il ruolo di *output*. Il nucleo centrale presiede al controllo delle espressioni di reazione alla paura, da un punto di vista comportamentale, autonomo ed endocrino, attraverso le proiezioni che possiede a valle, incluso l'ippocampo, nella sostanza grigia e nel nucleo motore dorsale del vago ^(43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51). La plasticità neuronale si

verifica nel nucleo centrale, ma è verosimilmente basata sulla plasticità del nucleo laterale (^{50,52}). Il nucleo laterale comunica con il nucleo centrale in modo diretto, ma essendo le loro connessioni più tosto modeste, questa viene integrata dagli altri nuclei dell'amigdala (⁵³).

L'amigdala, insieme all'ippocampo e ad altri centri nervosi superiori, svolge anche un ruolo molto importante nel controllo della secrezione di catecolammine da parte della midollare del surrene. Infatti non appena questa struttura nervosa percepisce una minaccia, le sue strutture efferenti vanno ad attivare una serie di aree *target* che controllano le risposte che devono contrastare la minaccia, sia comportamentali che organiche (^{45,47,54}). Oltre all'espressione di comportamenti difensivi, come ad esempio il *freezing* (^{55,56}), l'attivazione dell'amigdala conduce all'attivazione di meccanismi encefalici e dell'organismo legati alle risposte allo stress (⁵³). Nell'encefalo, il sistema monoaminergico risulta attivato, conseguentemente il rilascio di neurotrasmettitori quali la noradrenalina, acetilcolina, serotonina e dopamina avviene in tutto l'encefalo (⁵³). Questi neurotrasmettitori conducono, in tal modo, ad un'aumento dell'*arousal*, dello stato di vigilanza e più in generale, della reattività del soggetto a stimoli esterni (^{43,57,58,59}). Dal punto di vista endocrinologico, invece, l'attivazione dell'amigdala, come già citato, determina la secrezione di CRH dal nucleo paraventricolare dell'ipotalamo. Il CRH, insieme ad altre sostanze ipotalamiche, causa il rilascio di ormone adrenocorticotropo dall'ipofisi, le quali poi determinano il rilascio di glucocorticoidi dalla corticale del surrene (⁵³). Per quanto riguarda le conseguenze organiche, l'amigdala non appena percepisce la minaccia, tramite le sue connessioni con il midollo allungato determina l'attivazione del sistema nervoso simpatico andando così a determinare il rilascio di adrenalina e noradrenalina dalla midollare del surrene e di noradrenalina dalle terminazioni nervose simpatiche distribuite nell'organismo (⁵³).

Altra importante struttura nervosa capace di agire sull'amigdala è la corteccia prefrontale mediale, la quale per mezzo della sua subregione infralimbica riesce ad inibire gli *output* dell'amigdala (⁶⁰), rendendosi in tal modo capace di determinare l'estinzione di determinate paure (⁶¹, ⁶², ⁶³). Mentre l'amigdala svolge un ruolo prevalentemente eccitatorio nei confronti dell'asse Ipotalamo-Ipofisi-Surrene, la corteccia prefrontale può avere sia una funzione eccitatoria che inibitoria. Ciò dipende sia dalle specifiche strutture nervose che dai neurotrasmettitori coinvolti (⁶⁴).

La midollare del surrene, come si intuisce dal nome stesso, occupa la parte più interna della ghiandola surrenale e svolge un ruolo chiave durante la fase di allarme dello stress. Le midollari del surrene, come già ricordato, producono due ormoni di tipo catecolaminico, l'adrenalina e la noradrenalina, che si accumulano nel citoplasma sotto forma di microscopici granuli e vengono scaricati nel circolo sanguigno dietro stimolazione nervosa. La midollare del surrene è difatti un organo di derivazione nervosa e le sue cellule endocrine (cellule cromaffini) vengono considerate come neuroni modificati di tipo post-gangliare (simpatici). Essendo controllate direttamente da fibre simpatiche pre-gangliari, a differenza di altre cellule endocrine, non necessitano che la concentrazione ematica dell'ormone stimolante aumenti, ma si attivano dopo la stimolazione nervosa con grande rapidità. Le catecolamine una volta immesse nel circolo svolgono la loro azione organica a livello sistemico e spesso in sinergia con l'azione del sistema nervoso vegetativo simpatico. L'azione delle catecolamine surrenaliche risulta essere più intensa e duratura rispetto alla stimolazione nervosa simpatica. Infatti la loro azione sugli organi bersaglio persiste sino a quando questi non vengono rimossi dal circolo ematico (cosa che avviene piuttosto lentamente), mentre le catecolamine rilasciate a livello sinaptico, vengono rapidamente eliminate mediante un meccanismo di ricaptazione e di catabolismo. Le due vie di stimolazione, nervosa ed

ormonale, si integrano fra loro ma la produzione di adrenalina di derivazione surrenalica risulta avere un'importanza maggiore in quanto va a raggiungere anche cellule bersaglio sprovviste di innervazione simpatica e garantiscono così anche una risposta comportamentale efficiente (³¹). A livello organico quindi, andranno a stabilirsi tutte quelle condizioni metaboliche che risultano essere indispensabili affinché il soggetto superi l'evento stressante combattendo o fuggendo. Probabilmente l'apparato che risente maggiormente degli effetti delle catecolammine è quello cardiocircolatorio. In particolar modo si assiste ad un aumento della pressione sanguigna, con vasocostrizione dell'apparato gastroenterico, della cute e dei reni mentre si avrà vasodilatazione a carico dei muscoli scheletrici, del cuore e del cervello. Ciò è facilmente spiegabile con il fatto che l'organismo deve prepararsi ad una possibile reazione di lotta o fuga e per tale motivo gli organi che devono essere maggiormente preparati ad una rapida ed intensa attivazione, necessitano di un maggior apporto di sangue a discapito dei distretti organici non direttamente coinvolti da questa risposta. Sempre per lo stesso motivo, l'animale sottoposto a stress presenta molteplici modificazioni organiche, a partire dalla broncodilatazione, dovuta al rilasciamento della muscolatura liscia bronchiale, tachipnea ed aumento dell'ematocrito, necessari per ottimizzare l'ossigenazione del sangue ed assicurare una funzionalità massima alla muscolatura cardiaca e scheletrica; la pupilla oculare sarà midriatica affinché vi sia una più intensa stimolazione della retina da parte della luce e per una migliore visibilità soprattutto se la luce è scarsa. Anche la glicemia si troverà obbligatoriamente a dover aumentare, visto che il glucosio è il principale metabolita per una rapida produzione di energia cellulare e muscolare. A questo scopo si assisterà anche ad un aumento della glicolisi muscolare ed epatica associata ad un'azione insulino-resistente operata dai glucocorticoidi, e oltre a ciò il rilascio insulinico da parte del pancreas sarà inibito. La glicemia elevata, oltre a favorire

un buon lavoro muscolare, rappresenta anche la principale fonte di energia per il tessuto encefalico che si dovrà trovare in uno stato di particolare attenzione e vigilanza, oltre a consentire la sopravvivenza in caso di digiuno prolungato. Oltre a questo si constaterà piloerezione ed una aumentata coagulabilità del sangue, (quest'ultima risulta essere un meccanismo difensivo particolarmente importante nel caso di ferite causate da un'eventuale reazione di lotta da parte dell'animale). Le modificazioni che si riscontrano a livello del sistema emocoagulativo, con un'ipercoagulabilità del sangue e spiccata trombofilia, sono dovute all'aumento dei livelli plasmatici dei fattori II, V, IX e soprattutto VIII della coagulazione, ad un aumento della sintesi e rilascio di plasminogeno, di α_2 -antiplasmina e dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1) e da una diminuzione del rilascio dell'attivatore tissutale del plasminogeno (tPA). Tutti questi elementi portano in tal modo ad un'alterazione del sistema fibrinolitico (⁶⁵) e risultano marcatamente evidenti durante lo stress cronico in quanto causati anche dalle alte concentrazioni ematiche di glucocorticoidi.

Successivamente alla fase di allarme vi è uno stato di resistenza. In questa fase il soggetto, percepito lo stressor, cerca di reagire ed a tornare allo stato di equilibrio. L'azione che caratterizza maggiormente questa condizione è quella dell'asse Ipotalamo-Ipofisi-Surrene ed in particolar modo dei glucocorticoidi che sono i maggiori responsabili delle reazioni organiche e comportamentali che avvengono in essa. Tra questi ormoni, svolge sicuramente un ruolo predominante il cortisolo, che nel cane è considerato il glucocorticoide primario (⁶⁶).

Il cortisolo viene prodotto a livello corticale del surrene dalle cellule della zona fascicolata, e come più volte ricordato, lo stimolo più grande per la sua produzione è data dal CRH e dall'ACTH. Il cortisolo una volta liberato nel circolo ematico è responsabile di diversi importanti conseguenze organiche. Una di queste è, come già

citato, l'aumento della glicemia : ottenuta, da una parte, inducendo un aumento della gluconeogenesi epatica, che in questo caso viene sostenuta dagli amminoacidi derivanti da un accentuato catabolismo proteico soprattutto a livello dei muscoli scheletrici, dall'altra, dall'azione anti-insulinica. L'azione anti-insulinica è post-recettoriale, ossia il cortisolo interferisce significativamente, diminuendo a più livelli l'efficienza funzionale sulla traslocazione indotta dall'insulina di proteine trasportatrici (*carrier*), preposte al trasporto transmembrana del glucosio dal compartimento microsomiale alla membrana plasmatica cellulare.

Per quanto riguarda il metabolismo lipidico i glucorticoidi hanno notevoli importanti ripercussioni organiche: infatti essi pur non avendo azione lipolitica diretta, potenziano quella di altri fattori ormonali (come ACTH, β -lipotropina, GH, catecolamine, prolattina) che vengono liberati in concomitanza. In tal modo si assiste ad un aumento complessivo della lipemia che interessa tutti i suoi componenti (trigliceridi, acidi grassi liberi, glicerolo e colesterolo) che si rendono così disponibili per una loro utilizzazione periferica. Complessivamente però tutto ciò, anche se avviene per lunghi periodi (come avviene ad esempio in caso di alcuni stress cronici), non porta ad un dimagrimento dell'animale, ma ad una riorganizzazione del tessuto adiposo che si accumula soprattutto a livello viscerale e che può condurre l'animale ad obesità.

Anche il metabolismo proteico viene modificato da alte concentrazioni di cortisolo; infatti quest'ormone determina un aumento del catabolismo proteico rendendo negativo il bilancio azotato. Questa azione si svolge soprattutto a livello extra-epatico (tessuto connettivo, scheletrico ed osseo) e porta ad un aumento di amminoacidi nel torrente ematico, che in parte vengono ricaptati a livello epatico, in parte vengono eliminati per via renale. Ciò se si prolunga nel tempo può portare a grave ipotrofia muscolare.

L'azione catabolica su proteine strutturali è evidente anche a livello cutaneo, ove i glucocorticoidi inibiscono i fibroblasti e la sintesi di collagene ⁽⁴²⁾.

Oltre a ciò, merita di essere ricordato anche il fatto che i glucocorticoidi hanno un'azione sinergica con le catecolamine, a dimostrazione di ciò si è visto che in soggetti con insufficienza surrenalica la muscolatura liscia vasale non risponde agli stimoli noradrenergici di vasocostrizione e gravi stress possono causare dei collassi circolatori ⁽⁶⁷⁾. In conclusione un'alta concentrazione di cortisolo ematico avrà come conseguenza un'ipertensione sistemica. A livello cardiaco determina invece tre effetti: inotropo, cronotropo e dromotropo positivo. In particolar modo risulta facilitata la conduzione atrio-ventricolare con conseguente accorciamento del tratto P-Q del tracciato elettrocardiografico ⁽⁴²⁾.

Anche l'apparato respiratorio risente dell'effetto del cortisolo, infatti a livello bronchiale esercita un'effetto di "sblocco" sulle cellule in possesso di recettori beta-adrenergici determinando così una broncodilatazione indotta per l'appunto da questi recettori ⁽⁴²⁾.

Ad alte e prolungate concentrazioni ematiche di cortisolo inoltre è particolarmente sensibile anche il tessuto osseo: in tale situazione vi è una diminuzione dell'assorbimento di calcio a causa di una minore idrossilazione della 25-OH-vitamina D₃ in 1- α -25-diidrossi-vitamina D₃, una maggiore escrezione renale di calcio e fosforo, un'aumentata secrezione di paratormone (PTH), una più rilevante attività degli osteoclasti ma soprattutto una riduzione del numero e dell'attività degli osteoblasti per probabile blocco maturativo e differenziativo ⁽⁶⁸⁾.

Oltre a questo, uno dei principali ruoli che il cortisolo svolge sull'organismo è la sua azione sul sistema immunitario che diviene particolarmente evidente durante la fase di collasso di Selye e durante gli stress cronici; il legame tra sistema immunitario e stress è

talmente stretto che nel 1981, Adrer R. coniò la parola “Psiconeuroimmunologia” per indicare un ambito disciplinare che studia i rapporti fra gli stati mentali e la fisiologia umana con particolare riferimento alla risposta immunitaria ⁽⁶⁹⁾. Detto ciò appare ancora più ovvio che non si può parlare esclusivamente di un’azione inibente sul sistema immunitario operata dal cortisolo, ma è più corretto riferirsi a strette correlazioni tra sistema neuroendocrino ed immunitario i cui meccanismi non sono tutt’oggi, del tutto chiari. L’Interleukina-1 (IL-1) è stata una delle prime sostanze ad essere scoperte che svolgono un’azione su entrambi i sistemi. L’ IL-1 viene prodotta dai fagociti mononucleati, ma anche dalle cellule gliali ^(70, 71) come pure di alcuni gruppi di neuroni dell’ippocampo e della corteccia ⁽⁷²⁾. Nel tempo sono aumentate le conoscenze sugli effetti dell’IL-1 e di altre sostanze , quali ad esempio l’interleukina-6 e il Tumor-necrosis factor α , sul funzionamento e sull’azione di determinati comportamenti. Si è visto che questi mediatori sono capaci di inibire l’attività motoria volontaria, oltre che l’assunzione degli alimenti, e sono capaci di modificare i meccanismi del sonno ⁽⁷³⁾. Alcuni studi hanno mostrato anche come le citokine possono essere liberate in seguito a stati emozionali e determinare in tal modo un aumento dell’attività dei macrofagi ⁽⁷⁴⁾. Molti autori hanno segnalato un aumento dell’IL-1 negli stati ansiosi ⁽⁷⁵⁾, dando così una possibile spiegazione ai disturbi del sonno che spesso accompagnano questo stato emozionale. La natura dello stress, come ad esempio il fatto che questi siano evitabili o meno, sembra poter influenzare la risposta immunitaria sia nel carattere che nella dimensione. In un soggetto sano un’aggressione evitabile, non altera le competenze immunitarie, anzi sembrerebbe che ne possa determinare un aumento: l’attivazione delle fibre noradrenergiche ne sarebbero alla base ⁽⁷⁶⁾. Al contrario, un’aggressione inevitabile causa una diminuzione delle difese immunitarie ed in questo caso sembra essere maggiore il ruolo degli ormoni surrenalici di alcune endorfine ed encefaline ⁽⁷³⁾.

In particolar modo è stato evidenziato che la β -endorfina e la metenkefalina, in esperimenti in vitro, modulano la proliferazione linfocitaria ed aumentano l'attività delle cellule *natural killer* (N.K.) (⁷⁷, ⁷⁸). Questi due oppioidi hanno anche la capacità di stimolare l'attività chemiotattica dei monociti, mentre la β -endorfina inibisce l'attività dell'interferone e diminuisce quella di anticorpi da parte dei linfociti B (⁷³). Nonostante ciò esperimenti in vivo mostrano un'attività immunosoppressiva degli oppioidi; infatti l'iniezione di morfina, capace di simulare sul piano comportamentale uno stato di stress, causa anche una immunosoppressione (⁷³). Le endorfine sono liberate in piccola parte dall'ipofisi e, per la maggior parte, dal surrene che le libera contemporaneamente alle catecolammine. Anche i linfociti sono in grado di liberare γ -endorfine e sostanze correlate quando reagiscono alla presenza di antigeni; inoltre l'effetto modulatore sulle funzioni cellulari collegate al sistema immunitario implica l'esistenza di recettori periferici oppiacei e non oppiacei sulla superficie dei linfociti (⁷⁹). Per quanto riguarda l'effetto generale che i mediatori dello stress hanno sul sistema immunitario è opinione comune che determinino una complessiva immunosoppressione; anche se non è sempre vero, appare comunque paradossale il fatto che mentre l'organismo è sotto "attacco" metta in atto dei meccanismi che ne determinino un maggior indebolimento. Diversi studi infatti hanno mostrato come situazioni di stress aumentino la suscettibilità dell'organismo a malattie o forme tumorali (⁸⁰, ⁸¹, ⁸², ⁸³). Per quanto riguarda le influenze che eventi stressanti possono avere sulle cellule ematiche immuno-competenti appaiono molto interessanti gli studi di Dhabar F.S. . L'autore con i suoi studi ha dimostrato che in seguito a stress acuti si assiste ad un rapido, significativo e prontamente reversibile diminuzione nella conta assoluta dei linfociti B, T, *natural killer* e dei monociti ematici (⁸⁴, ⁸⁵, ⁸⁶). Questa diminuzione del numero dei leucociti nel sangue rappresenta una loro redistribuzione dal

sangue ad organi quali il midollo osseo, i linfonodi e la cute (^{87, 88, 89}). L'autore ipotizza che un tale meccanismo potrebbe avere la funzione di migliorare la competenza immunitaria nei compartimenti in cui vengono richiamati i leucociti durante lo stress, andando così ad osservare, in talune condizioni di stress, un miglioramento dell'immunità cellulo-mediata, mentre in altre una soppressione della stessa (⁹⁰). A conferma di questa ipotesi anche altri studi hanno evidenziato un miglioramento stress-indotto nella proliferazione dei linfociti mitogena-indotta (^{91, 92}), nella funzione fagocitaria dei macrofagi (⁹³), nell'attività dei linfociti *natural killer* (⁹⁴) e nella produzione di IL-1, IL-2 e IFN- γ (^{95, 96}). In contrasto con il miglioramento della risposta immunitaria nello stress acuto, l'immunosoppressione causata da uno stress cronico può essere mediata da meccanismi che conducono alle seguenti conseguenze: effetto inibitorio sull'attivazione dei linfociti T, sulla presentazione dell'antigene, sulle azioni dei mediatori dell'infiammazione, sull'attivazione della lipocortina; sull' induzione dell'apoptosi dei linfociti, o sulla soppressione delle funzioni delle cellule effettrici (⁹⁷); da una diminuzione degli eosinofili ematici; da una inibizione nel rilascio di determinate citochine (essenziale per la maturazione dei linfociti B e T) ed una diminuzione della dimensione dei linfonodi (^{98, 99}). A questo proposito c'è da aggiungere che, altri studi hanno evidenziato che uno stress acuto, contrariamente a quanto precedentemente scritto, può inibire la risposta immunitaria ed uno cronico migliorarla. Per esempio, si è notato che uno stress acuto può avere azione soppressiva a livello splenico e sulle capacità mitogene dei linfociti T (^{100, 101}) e sulla produzione splenica di IgM (¹⁰²); mentre, invece, in seguito ad uno stress cronico, si può assistere ad un miglioramento nelle capacità proliferatrici degli splenociti (¹⁰⁰) e sulla produzione splenica di IgM (¹⁰²). Sembra che la durata dell'evento stressante sia un fattore determinante nel cambio di questa reattività immunitaria (⁹⁰).

Dopo aver descritto le modificazioni che il cortisolo può svolgere sul sistema immunitario, bisogna spiegare quali siano le sue possibili influenze sul sistema endocrino, visto l'importante ruolo che questo possiede sull'organismo, come quello di modificare il metabolismo in modo significativo, inibire o aumentare alcune funzioni e addirittura condizionare la vita stessa. Per comprendere più facilmente l'entità di queste influenze, basta ad esempio pensare ai gravi problemi endocrini presenti nei soggetti, sia uomo che animale, affetti da morbo di *Cushing*. Alti livelli di cortisolo ematico determinano ad esempio una riduzione dei livelli circolanti degli ormoni tiroidei T₃ e T₄ e una ridotta sintesi epatica di *thyroxine binding globulin* (TBC); in tal modo rallenta la conversione periferica nel T₄ nella sua forma metabolicamente attiva (T₃) ma favorisce la via alternativa a *reverse* T₃ (rT₃). Ad ogni modo la concentrazione ematica rimane solitamente nel *range* di normalità e difficilmente si notano segni clinici di ipotiroidismo⁽⁴²⁾.

Anche le capacità riproduttive in presenza di alte concentrazioni di glucocorticoidi risultano compromesse in entrambi i sessi. Questi ormoni infatti inibiscono la sintesi della subunità α degli ormoni glicoproteici ipofisari tra i quali il Gonadotropin Releasing Hormone (GnRh) che è fondamentale per il rilascio delle gonadotropine ipofisarie LH (ormone luteinizzante) e FSH (ormone follicolo-stimolante). Appare in tal modo chiaro come questo possa determinare la sospensione delle capacità riproduttiva in soggetti sottoposti per lunghi periodi ad eventi stressanti.

Stress molto prolungati possono essere molto dannosi in soggetti giovani in fase di accrescimento: anche l'ormone dell'accrescimento (GH) infatti è influenzato negativamente sia nella secrezione che nell'azione dalle alte concentrazioni ematiche di glucocorticoidi, sino a determinare un rallentamento o addirittura un arresto del normale sviluppo corporeo.

Si può quindi affermare che anche in presenza di uno stress cronico l'organismo mette in atto una serie di cambiamenti metabolici che hanno come obiettivo quello di aumentare le capacità energetiche per affrontare la situazione a discapito di altre che non sono immediatamente indispensabili, come per esempio le capacità riproduttive, immunitarie o di accrescimento. Tutto questo però col passare del tempo può provocare nell'organismo degli scompensi e modificazioni che, come già riportato, possono condurre l'organismo ad una maggiore fragilità nei confronti di patologie, metaboliche o infettive, che possono prendere il sopravvento e peggiorare ancora di più il benessere del soggetto.

Tra le importanti modificazioni che possono scaturire da tutte le alterazioni organiche causate dalle alte concentrazioni di glucocorticoidi stress-indotte, hanno grande rilevanza quelle subite dal SNC: a livello dell'amigdala uno stress cronico può causare un aumento delle arborizzazioni e spine dendritiche e un incremento delle connessioni sinaptiche nei neuroni principali del nucleo laterale e basale (¹⁰³, ¹⁰⁴) ma non nel nucleo centrale (¹⁰⁵). Inoltre uno stress cronico da immobilizzazione, induce un rimodellamento dendritico nei nucleo laterale e in quello basale (¹⁰⁶). Oltre a ciò, in base alla durata dell'evento stressante si ha un differente orientamento spazio-temporale delle spine dendritiche. Nel caso di stress sia acuto che cronico, aumentano le spine dendritiche nei neuroni del nucleo basale e laterale, ma solo nel caso di uno stress cronico c'è una azione sulle arborizzazioni dendritiche (¹⁰⁷). Anche una singola ed acuta dose di glucocorticoidi è capace di determinare un'ipertrofia dei neuroni dei nuclei laterale e basale dell'amigdala (¹⁰⁸).

L'ippocampo possiede un gran numero di recettori sia per i mineralcorticoidi che per i glucocorticoidi, e diversi studi hanno dimostrato che una prolungata esposizione ai glucocorticoidi altera la morfologia e l'integrità funzionale dei neuroni ippocampali

(¹⁰⁹, ¹¹⁰), determinando una diminuzione di volume, associabile con un'atrofia della struttura intera. Un interessante studio ha evidenziato che in pazienti umani, che hanno subito un'intervento di trapianto d'organo, trattati quindi con alti dosi di corticosteroidi, si assiste ad una riduzione di volume che coinvolge esclusivamente l'ippocampo e non l'amigdala, indicando così una specifica neurotossicità di questi steroidi (¹¹¹). Si è ipotizzato che questa diminuzione di volume possa essere poi alla base di un aumento dell'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (¹¹²) perché, come già citato precedentemente, quest'organo svolge un feed-back negativo sulla secrezione di glucocorticoidi surrenalici. Riduzioni del volume dell'ippocampo sono state descritte anche in persone affette dalla sindrome di Cushing (¹¹³), da disturbo post-traumatico da stress (DPTS) (¹¹⁴, ¹¹⁵) e in persone anziane (¹¹⁶). Anche nei pazienti con malattie depressive si può notare una diminuzione di volume che può coinvolgere o la parte sinistra dell'ippocampo(¹¹⁴, ¹¹⁷, ¹¹⁸, ¹¹⁹), o la destra(¹²⁰) o coinvolgere l'intera struttura (¹²¹, ¹²²). Lo stato di stress, in particolar modo, indurrebbe una diminuzione delle ramificazioni e delle spine dendritiche dei neuroni ippocampali (¹²³).

Recenti studi hanno evidenziato un importante ruolo, nelle malattie depressive, anche dell'amigdala (¹²⁴) la quale può andare incontro ad un aumento di volume (¹²⁵, ¹²⁶) o una diminuzione (¹²², ¹²⁷, ¹²⁸), nella maggior parte di pazienti depressi. Anche in questo caso sembrerebbe che la causa delle alterazioni osservate sarebbe imputabile allo stress persistente presente in questi individui, considerando il fatto che l'amigdala e l'ippocampo sono i siti anatomici del SNC nei quali maggiormente agiscono i glucocorticoidi (¹²⁹). Così come nell'uomo, anche negli animali soggetti a stress si osservano delle caratteristiche paragonabili a quelle osservate nelle persone affette da malattie depressive, quali ad esempio, variazioni del peso corporeo, disturbi del sonno, indebolimento delle funzioni dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene; è ipotizzabile che si

possano riscontrare anche le alterazioni morfologiche a carico dell'amigdala e dell'ippocampo (¹³⁰). Secondo Reagan et al. (¹³⁰) le modificazioni neurochimiche ed i *deficit* cellulari nella plasticità sinaptica ippocampale, che si verificano in seguito a stress cronici, sarebbero dovute ad un' effetto a lungo termine dello stato iperglicemico indotto dai glucocorticoidi.

E' stato visto anche in altri studi, inoltre, che queste sostanze presentano livelli elevati in roditori anziani con patologie a carico dell'ippocampo (¹³¹). Il livello basale di corticosterone plasmatico nei ratti anziani è significativamente correlato con degenerazione ippocampale e deficit nell'apprendimento spaziale (¹³², ¹³³). Elevati livelli basali di corticosteroidi plasmatici sono stati trovati solo in ratti anziani con deficit della memoria spaziale, ma non in ratti anziani privi di questi deficit mnemonici (¹³⁴). Una complessiva esposizione ad alti livelli di glucocorticoidi durante la vita conducono i neuroni ippocampali a disturbi della funzione elettrofisiologica, ad atrofia ed infine a morte. Queste alterazioni possono condurre a seri *deficit* cognitivi (¹³¹) nell'apprendimento e nella memoria ippocampo-dipendenti (¹³⁵). Allo stesso modo, anche in uomini affetti da sindrome di *Cushing* (¹³⁶) e morbo di *Alzheimer* (¹³⁷) è stata sottolineata una correlazione diretta tra elevati livelli plasmatici di cortisolo, degenerazione ippocampale e deficit cognitivi (¹³⁸). Inoltre, come già affermato, essendo l'ippocampo non solo un target dei glucocorticoidi ma anche uno dei loro regolatori, sia in condizioni fisiologiche che in condizioni di stress (¹³⁹), ad una sua eventuale lesione conseguirebbe un incremento dei livelli basali di questi ormoni (¹⁴⁰). Quindi l'atrofia dell'ippocampo risulta essere sia il risultato che una concausa di un livello basale di glucocorticoidi elevato.

Anche i neuroni della corteccia prefrontale mediale in seguito a stress ed alla presenza di glucocorticoidi vanno incontro a modificazioni morfologiche che consistono

nell'atrofia e perdita delle spine dendritiche (^{141, 142, 143}). E' interessante notare che mentre l'atrofia stress-indotta dell'ippocampo (^{144, 145, 146}) e dei neuroni della corteccia prefrontale mediale (¹⁴⁷) sono reversibili dopo un periodo privo di stress, questo non avviene, dopo lo stesso periodo, nell'amigdala dove persiste l'ipertrofia dei neuroni (¹⁴⁸).

A questo punto per concludere questo argomento è necessario porre l'attenzione sulle alterazioni comportamentali del cane sottoposto a situazioni stressanti, visto che per dare un giudizio sul suo benessere, questo risulta essere di fondamentale rilevanza. Prima ancora di affrontare questo tema, per il quale rimandiamo al prossimo capitolo, è importante fare alcune considerazioni sul lavoro muscolare, sul suo metabolismo e su quali siano i parametri per giudicare un corretto lavoro fisico. Lo scopo di questo lavoro è quello di valutare non solo il benessere di un gruppo di cani che svolgono un lavoro psicomotorio.

Il muscolo è l'unità responsabile dell'esecuzione dei movimenti ed ha la funzione di sviluppare una forza meccanica e di contrarsi, eseguendo un lavoro. Il tessuto muscolare costituisce circa il 40% della massa corporea dei mammiferi e morfologicamente viene distinto in muscolo striato (per lo più muscolo scheletrico responsabile dei movimenti dell'impalcatura scheletrica), muscolo cardiaco (anch'esso striato ma con specializzazioni morfologiche che lo rendono un sincizio funzionale) e il muscolo liscio privo di striature organizzate rilevabili con il microscopio ottico) (¹⁴⁹).

Le fibre muscolari vengono classificate in base all'esistenza di diverse isoforme di miosina in grado di influire sulla velocità di contrazione del muscolo e sul tipo di metabolismo energetico utilizzato. Queste risultano essere geneticamente predeterminate, individualmente variabili anche in rapporto allo stato di allenamento del soggetto. In base all'isoforma della catena miosinica pesante (MHC) vengono

ulteriormente distinte fibre di tipo I e fibre di tipo II. Le fibre di tipo I (fibre rosse) si contraggono lentamente ed in modo prolungato queste vengono idealmente reclutate per esercizi di resistenza e sono in grado di sostenere una contrazione tetanica per periodi di tempo prolungati senza comparsa di affaticamento. Sono abbondantemente presenti nei muscoli posturali. La loro elevata capacità ossidativa è dovuta alla presenza di un numero elevato di mitocondri per unità di volume e necessitano di notevoli quantitativi di glucosio, acidi grassi liberi e ossigeno per la contrazione. Queste fibre possiedono le maggiori riserve di lipidi, la maggior densità di capillari, le più basse riserve di glicogeno e la più bassa capacità degli enzimi implicati nella glicolisi. Producono ATP, sfruttando in particolare la fosforilazione ossidativa, assicurando in tal modo una resa energetica spiccata ed una elevata resistenza. Le fibre muscolari a contrazione rapida, dette fibre di tipo II (fibre bianche), sono maggiormente rappresentate nei muscoli scheletrici destinati alla locomozione e ai movimenti fini. Queste ultime hanno la più alta velocità contrattile, la maggiore area di sezione trasversa, il più alto contenuto in glicogeno, la più alta capacità glicolitica e la più bassa capacità ossidativa. Solitamente vengono reclutate per i consumi di energia rapidi e potenti. Le fibre di tipo II vengono poi ulteriormente divise in IIA e IIB. Nel cane i primi studi sull'eterogenicità del tipo di fibre espresse nei muscoli portarono a conclusioni controverse, dove non era sempre possibile distinguere ed identificare in modo univoco le fibre di tipo 1, 2A e 2B (¹⁵⁰, ¹⁵¹, ¹⁵², ¹⁵³, ¹⁵⁴, ¹⁵⁵); infatti se era possibile distinguere i tipi 1 e 2A lo stesso non si poteva dire per la 2B ma si evidenziò una fibra veloce differente che fu chiamata “*2dog fibers*” (¹⁵⁶). Alcuni studi recenti hanno mostrato che la “*2dog fibers*” esprime una miosina a catena pesante (MCH) 2X (¹⁵⁷, ¹⁵⁸). Ad una conclusione simile sono giunti anche Acevedo e Rivero che hanno messo in evidenza come nei muscoli del cane sono distinguibili ben otto tipi distinti di fibre, tra cui dei tipi di fibra ibride, e tutte

caratterizzate da un alto metabolismo ossidativo (¹⁵⁹). Diversi studi hanno messo in evidenza l'abbondanza di fibre ibride nei muscoli dei cani (^{158, 160}) (Tabella1).

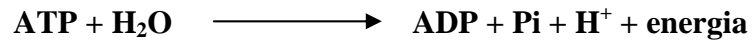
Tabella 1: Distribuzione percentuale delle singole fibre muscolari sulla base della loro composizione dell'Isoforma MHC determinata tramite elettroforesi. Dati ottenuti da Toniolo et al. ⁽¹⁶⁰⁾ .						
	Ld	D	Sm	Tc	Tvm	Tve
1	25%	33%	15%	27%	5%	0
1-2A	4%	5%	5%	5%	0	9%
2A	50%	62%	64%	32%	14%	6%
2A-2X	17%	0	3%	2%	30%	57%
2X	4%	0	13%	34%	33%	28%
2X-2B	0	0	0	0	10%	0
2B	0	0	0	0	8%	0
	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Numero delle fibre	24	23	81	40	58	21
L'Autore ha ottenuto le singole fibre muscolari da sei distinti muscoli e le ha poi classificate in base alla loro composizione dell' isoforma di MHC. Ld, lunghissimo del dorso; D, diaframma ; Sm, semimembranos0; Tc, tibiale craniale; Tvm e Tve, vocale parte mediale e parte ventricolare del tiroaritenoido						

Molti muscoli nel cane contengono un misto dei vari tipi di fibre, ma la loro percentuale può variare in base al gruppo muscolare, alla razza e a variazioni individuali. Queste percentuali non sono costanti, ma possono variare nel tempo con l'allenamento.

E' interessante notare che la fibra di tipo IIB, è l'isoforma che presenta la più rapida velocità di contrazione e nel cane è localizzata esclusivamente nei muscoli laringei mentre sembrerebbe del tutto assente nei muscoli del tronco e degli arti (^{158, 159}).

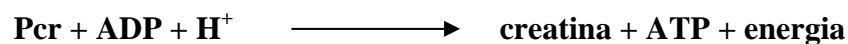
L'assenza dell'isoforma funzionale MyHC-IIB è stata riportata anche nei muscoli locomotori in altre specie di mammiferi tra cui uomo (¹⁶¹), gatto (¹⁶²), vacca (¹⁶³), capra (¹⁶⁴) e cavallo (¹⁶⁵).

La fonte di energia necessaria per la contrazione muscolare è rappresentata dal legame fosfato contenuto nella molecola di ATP (adenosintrifosfato). Quando questo legame viene scisso, vengono prodotti ADP, fosfato inorganico ed energia necessaria per le funzioni cellulari.



Durante la contrazione muscolare, l'ATP viene utilizzato sia per attivare il sistema actina-miosina, sia per attivare le pompe di trasporto ionico presenti nella membrana cellulare e nel reticolo sarcoplasmatico. La produzione di ATP nel muscolo può avvenire attraverso diverse vie metaboliche come la glicogenolisi, la glicolisi, il ciclo di Krebs, la fosforilazione ossidativa, l'ossidazione degli acidi grassi liberi (FFA), la catena di trasporto degli elettroni e il ciclo dei nucleosidi purinici. Un gran numero di fattori interdipendenti sembrano influenzare la via metabolica utilizzata nel cane durante l'esercizio. Questi includono la velocità e la durata dell'esercizio, la vascolarizzazione capillare, nonché la capacità ossidativa e glicolitica delle fibre muscolari, la disponibilità di ossigeno e dei differenti substrati energetici.

Il cane possiede una riserva molto piccola di ATP all'interno dei suoi muscoli. Questa riserva, insieme con la riserva di creatina fosfato (Pcr) viene consumata velocemente entro pochi secondi dall'inizio di un esercizio. La reazione che coinvolge la Pcr è la seguente:



Questi processi, detti dei fosfageni, sono conosciuti come metabolismo anaerobico alattacido, poiché non necessitano di apporto di ossigeno per svolgersi e non danno luogo alla produzione di acido lattico. Dato che i substrati necessari sono già nel

muscolo e la reazione a cui sono sottoposti è molto veloce, questo metabolismo ha per punti di forza la velocità di avvio e l'energia erogata nell'unità di tempo, ma decisamente pecca per la sua esigua autonomia. Contestualmente ad esso, al fine comune di risintetizzare nuovo ATP, operano altri metabolismi: quello aerobico, con ossidazione del glucosio, quello anaerobico lattacido, con consumo di glicogeno muscolare e formazione di acido lattico e l'ossidazione degli acidi grassi (¹⁶⁶). Gli acidi grassi ossidati dal muscolo sono in particolare acidi grassi non esterificati (NEFA). Con l'aumentare della loro concentrazione raggiungono l'interno della cellula per diffusione, e solo successivamente, per intervento del carrier carnitina (azione indispensabile per gli acidi grassi a lunga catena). All'interno della cellula subiscono un processo di ossidazione con produzione di energia. Gli acidi grassi possono essere prelevati anche a livello epatico, per mezzo di lipoproteine, trasformati in corpi chetonici e quindi ossidati a livello endocellulare.

Gli aminoacidi ramificati (leucina, isoleucina, valina) possono costituire fino al 10% dell'apporto ossidativo energetico muscolare, con capacità di trasformazione in acido piruvico, con formazione di alanina (azione glucogeneogenetica), acido glutammico, glutammina. Alanina e glutammina, prelevati dal fegato, possono essere utilizzati per formare glucosio (gluconeogenesi). A fronte dei processi descritti, parallelamente l'attività enzimatica (alanina-transferasi, aspartato-aminotransferasi, glutammico-deidrogenasi) è al centro dell'attività catalitica.

Più nello specifico, possiamo affermare che una caratteristica metabolica di tutti i tipi di fibre muscolari a contrazione veloce del cane è quella di presentare un metabolismo ossidativo che va dal moderato all'elevato (^{167, 168, 169}). L'assenza di fibre puramente glicolitiche nella muscolatura scheletrica del cane fa sì che questa specie animale abbia delle spiccate capacità di svolgere lavori muscolari di estrema ed alta resistenza

(*endurance*) e può essere considerato un modello per lo studio del livello di correlazione tra espressione fenotipica della caratteristica contrattile e non-contrattile dei tipi di miofibre muscolari negli animali atleti con una superiore capacità alla resistenza (¹⁵⁹).

In seguito all'attività fisica nel cane si manifestano una serie di reazioni fisiologiche adattative, tra cui un aumento della gittata cardiaca, un miglioramento della ventilazione alveolare ed un conseguente aumento del trasporto di O₂ e ossigenazione cellulare.

Appare del resto necessario che le possibilità atletiche siano correlate ad un corretto sviluppo morfologico e ad una corretta alimentazione.

In caso di un esercizio muscolare eccessivo o affrontato in condizioni fisiologiche non ottimali (come nel caso di malnutrizione e in corso di una qualsiasi patologia), possono insorgere degli aspetti negativi, come una situazione di affaticamento muscolare o generalizzato. Potremo definire quindi “fatica” come uno stato di esaurimento delle prestazioni funzionali conseguente ad un esercizio fisico protratto eccessivamente, o non adatto alle caratteristiche morfo-funzionali del soggetto. In relazione all'insorgenza della fatica ed al grado di depauperamento fisiologico possiamo distinguere una fatica fisiologica, una fatica patologica ed affaticamento cronico. La fatica fisiologica è caratterizzata da una sintomatologia di breve durata e da una capacità di recupero organico completo in breve tempo. La fatica patologica è caratterizzata invece da grave prostrazione e debilitazione, ed approssimarsi dello stato di shock.

L'affaticamento cronico è contraddistinto a sua volta da incapacità di completo recupero funzionale, per cui tende a determinarsi ed evidenziarsi, nella caduta di performance, uno stato di precoce affaticamento.

A quest'effetto possono essere ricondotti anche i fenomeni da “superallenamento”. Dal punto di vista fisiopatologico le principali cause che determinano questo stato sono: l'accumulo di cataboliti (ammoniaca, anidride carbonica, acido lattico, AMP, prodotti di

degradazione) ed ipertermia, esaurimento delle scorte energetiche (carboidrati, grassi, proteine, enzimi, ormoni, vitamine, elementi minerali), sforzo muscolare eseguito senza un'adeguato allenamento, o allenamento programmato svolto in modo errato, alimentazione inadeguata alle richieste dell'organismo per svolgere un determinato lavoro muscolare (¹⁶⁶).

Quando si vuole valutare e controllare l'attività muscolare di un soggetto i parametri ematici che hanno un maggiore significato sono l'acido lattico, gli enzimi muscolari creatinichinasi (CK) e l'aspartato aminotransferasi (AST).

L'acido lattico è un sottoprodotto dell'attività anaerobica dei muscoli e la sua produzione, nel muscolo scheletrico, avviene in contemporanea con la sua rimozione (¹⁷⁰). Questo catabolita, in caso di esercizio fisico intenso, si accumula al livello del tessuto muscolare che lo produce e una parte significativa di esso si riversa nel sistema vascolare ematico (¹⁷¹), attraverso il torrente ematico raggiunge il cuore, il fegato e i muscoli inattivi, dove viene riconvertito in glucosio. Tuttavia, durante un esercizio fisico intenso e prolungato, può accadere che i muscoli producano nel tempo più acido lattico di quanto gli organi sopra citati ed i restanti muscoli inattivi riescano a metabolizzare. In questo caso, la concentrazione di acido lattico nel sangue aumenta fino al punto in cui non è più possibile che venga smaltito a livello dei muscoli attivi. Ecco che si presentano i noti effetti di affaticamento e successiva incapacità locale allo sforzo. L'acido lattico di fatti è un forte acido organico (pK 3.8) ed al pH fisiologico si dissocia in un protone (H^+) ed un anione ($CH_3H_5O_3^-$) (¹⁷²). L'idrogenione così prodotto viene neutralizzato principalmente dal bicarbonato, quindi man mano che l'acido lattico viene prodotto si assisterà ad una riduzione di bicarbonato che col perdurare del lavoro muscolare potrà dar luogo ad un'acidosi metabolica (¹⁷³). Ad ogni modo, per via del suo ciclo metabolico, una volta che i muscoli hanno ripreso la loro normale attività aerobica

e quando il livello in circolo nel sangue scende sotto la soglia critica di concentrazione, l'acido lattico viene immediatamente eliminato dal circolo sanguigno (nel giro di qualche decina di secondi o di pochi minuti), e la gran parte di quello che si era accumulato nei muscoli attivi viene rapidamente smaltito, all'incirca in un'ora dall'attività fisica; riguardo a ciò tuttavia vi potrebbero essere differenze interindividuali e soprattutto razziali (¹⁷³, ¹⁷⁴).

La creatinfosfochinasi (CK) è un enzima citoplasmatico che catalizza sia la formazione di adenosina trifosfato (ATP) che la fosforilazione reversibile della creatinina, utilizzando l'ATP come donatore di fosfato. La sintesi di creatina fosfato è particolarmente importante nei tessuti muscolari, dove funziona da molecola di riserva energetica(¹⁷⁵). Questa è ben distribuita nell'organismo essendo presente nel muscolo scheletrico, nel miocardio, nel cervello, negli eritrociti, nel fegato, nel pancreas e in molti altri distretti organici, e si differenzia in varie frazioni enzimatiche (BB, MB, MM). In particolar modo la frazione MM costituisce circa il 98% della CK muscolare e circa l'80% della CK miocardica; la frazione CK-BB è presente a livello del tessuto cerebrale; la frazione MB è relativamente bassa nel miocardio e circa dieci volte più alta nell'intestino, nel rene, polmone (¹⁷⁶, ¹⁷⁷). Il CK è un'indicatore estremamente sensibile del danno muscolare e quindi fornisce spesso valori elevati anche in seguito a danni muscolari secondari a problemi che interessano il muscolo secondariamente (ad esempio per danno pressorio in animale in decubito, convulsioni) (¹⁷⁸). Incrementi specifici di CK si possono rilevare in numerose condizioni patologiche, quali miopatie ereditarie, ipertermia maligna, ipotiroidismo, avitaminosi E, deficienza di selenio, interventi chirurgici, iniezioni intramuscolari e, in particolare, nell'infarto miocardico, con rapporto diretto fra entità del danno miocardico e il livello degli indici di CK (¹⁷⁹). La valutazione del CK plasmatico è stata usata per molto tempo per la diagnosi ed il

monitoraggio degli infarti miocardici nell'uomo; mentre negli animali è maggiormente usato quale *marker* di danni a livello di muscolatura scheletrica, miopatie nutrizionali o danni muscolari indotti dall'esercizio (¹⁷⁷). Dopo il rilascio, il CK raggiunge il comparto plasmatico, prevalentemente per via linfatica (¹⁸⁰) viene quindi metabolizzato a livello epatico (¹⁸¹). Il CK, unitamente al lattato ed al cortisolo ematico, appare indice specifico dell'affaticamento muscolare, tendendo ad aumentare nello sforzo fisico con notevoli caratteri di diversità e variabilità, anche individuale, nelle varie specie animali. Incrementi specifici nel cane sono stati rilevati in varie razze quali ad esempio il *Greyhound* ed il *Labrador Retrievers* (¹⁷³, ¹⁸²). L'incremento del CK, diversamente dall'andamento degli indici di lattato, ha manifestato nel cane notevoli caratteristiche di persistenza, rimanendo più elevato rispetto ai valori basali anche 3 ore dopo la conclusione della prova (¹⁸³). Riguardo ai tempi di recupero di valori basali del CK, è stato messo in evidenza anche in altre specie animali, come ad esempio nel cavallo, o nel cammello, nel quale tendono a tornare ai livelli basali solo fra 12 e 36 ore dalla fine della prova (¹⁸⁴). Si deve comunque tenere in massimo conto anche il carattere di una spiccata individualità diffusa fra le varie specie animali (¹⁸⁵). La determinazione del CK sembra assumere rilievi funzionali specifici come causa, o almeno concausa, di riduzione della "performance" atletica nel cane da slitta, unitamente alla valutazione di lattato, cortisolo, AST ed altri parametri ematici (¹⁸⁶).

L'Aspartato transferasi (AST) un tempo noto anche come glutammico ossalacetico transaminasi sierica (SGOT) catalizza il trasferimento dell'aminogruppo dall'L-glutammato all'ossalacetato o dall'L-aspartato all' α -chetoglutarato e, portando alla formazione di aspartato, fornisce una fonte di azoto per il ciclo dell'urea. Anche quest'enzima si trova in quantità significative nel tessuto muscolare oltre che negli epatociti, negli eritrociti ed in altri tessuti. Ne esistono di due isoforme: una a localizzazione

citoplasmatica (CAST) ed una mitocondriale(MAST). Anche quest'enzima aumenta in seguito ad esercizio muscolare, iniezione intramuscolare, infiammazione o necrosi muscolare. La maggior parte degli enzimi che aumentano nel sangue in corso di patologie muscolari sono a localizzazione citoplasmatica, benché si possa trovare anche la forma mitocondriale dell'AST soprattutto se l'insulto è stato particolarmente severo. Appare evidente che la valutazione complessiva di acido Lattico, CK e AST possono fornire un valido e sicuro indice di un possibile danno muscolare causato da esercizio eccessivo o mal svolto.

3. Comportamento del cane in caso di stress.

A questo punto è importante discutere dei comportamenti che sono riscontrabili nel cane quando è sottoposto a stress acuto e cronico.

Questo argomento risulta essere oggetto di numerosi studi sia per quanto riguarda il cane che altre specie animali. L'importanza del comportamento come strumento per valutare il benessere degli animali è stato valorizzato per la prima volta dal Comitato *Brambell*, nella sua relazione sulle pratiche agricole intensive (¹⁸⁷). Lo studio del comportamento contribuisce a rivelarci ed a farci comprendere come reagiscono gli animali a determinati stimoli, quali ad esempio dolore o situazioni disagiati, ma anche a interpretare il loro comportamento sociale, sia con i conspecifici che con gli eterospecifici. Queste informazioni consentono di determinare l'etogramma della specie animale oggetto di studio. L'etogramma infatti è un catalogo del repertorio comportamentale (o modulo comportamentale) della specie animale studiata. In questo contesto ci occuperemo di descrivere e discutere principalmente i moduli comportamentali che il cane mostra in seguito ad emozioni negative. A tal proposito è

molto interessante lo studio di Beerda e collaboratori (¹⁸⁸), i quali hanno analizzato il comportamento del cane in seguito a vari eventi stressanti, cercando di focalizzare l'attenzione sui cambiamenti comportamentali, fisiologici e immunologici che sono associati ai vari stressor. Ad esempio stressor sperimentali, quale uno *shock* elettrico violento, possono indurre il cane ad urinare, defecare, tentare la fuga, emettere vocalizzazioni di diversa intensità e timbro, può comparire scialorrea, agitazione, tendenza a mostrare stereotipie ed eseguire rapidi movimenti oculari con midriasi (¹⁸⁹). I soggetti possono inoltre mostrare piloerezione, tremori muscolari, respiro corto ed ansimante, coda fra le gambe, posizione bassa del corpo, movimenti veloci della lingua (^{188, 190}). Iperpnea e scialorrea possono presentarsi anche come reazione anticipatoria ad un inevitabile shock elettrico seppur di bassa intensità (¹⁹¹) e anche in caso di forti rumori (¹⁹²). Questi modelli comportamentali rappresentano, in tale contesto, delle azioni compensatorie per un ottimale termoregolazione (¹⁹³): l'anti-diuresi infatti osservata nei cani che anticipano uno *shock* elettrico inevitabile, aiuta l'organismo a conservare l'acqua necessaria per questa risposta termoregolatoria (^{191, 193}). E' interessante notare che questa risposta non si manifesta in tutte le razze canine: Corson, in uno studio fatto nel 1971, osservò questa risposta in cani di razza *Fox Terrier* ma non in quelli di razza *Beagle* (¹⁹¹). Questa differenza nella risposta termoregolatoria tra le diverse razze, sembrerebbe attribuibile ad una risposta allo stress prevalentemente del tipo "combatti o fuggi" nei *Terrier* (¹⁹⁴) e "difesa-remissione" (¹⁹⁵) nei cani *Beagle* (¹⁹³). C'è da aggiungere che gli shock elettrici non sono stati usati solo in condizioni sperimentali come *stressor*, ma tutt'oggi sono anche usati come discutibili metodi di apprendimento del cane (¹⁹⁶). Leccarsi le labbra, sollevare la zampa anteriore, avere una postura bassa o seduta, sono stati segnalati quali indicatori comportamentali di stress in cani soggetti ad un duro metodo di allenamento (¹⁹⁷). Anche una postura bassa, di

sottomissione, viene considerata un indicatore di stress (^{188, 197}). Nel comportamento sociale del cane quello della sottomissione è un concetto strettamente correlato con la paura e gli schemi comportamentali che la caratterizzano. Questi ultimi sono: orecchie portate indietro (talvolta anche completamente appiattite sulla testa), labbra tirate indietro (senza mostrare i denti), occhi socchiusi (stretti, che ammiccano), flessione degli arti (il corpo si acquatta), coda abbassata (a volte tenuta completamente tra le zampe) (¹⁹⁸).

Cani sottoposti a stress ambientali, come ad esempio, costretti all'isolamento e a stare in spazi ristretti (inferiori ai 3 m²), manifestano una riduzione di attività (¹⁹⁹) o inattività completa (¹⁸⁸), dovuti probabilmente alla mancanza di stimoli e di spazio adeguato per il manifestarsi di qualsiasi modulo comportamentale e non necessariamente legati alla causa stressante (¹⁸⁸). Il confinamento del cane in spazi ristretti solitamente induce l'animale a compiere movimenti e azioni ripetitive quali il camminare senza una finalità, inseguirsi la coda, rimbalzare sui muri di recinzione, succhiarsi il fianco (¹⁹⁹), così pure attività di *grooming* eccessivo e morsicare o leccare le barriere del recinto (²⁰⁰). Comportamenti stereotipati anche nel cane, così come negli animali da allevamento (²⁰¹), sono indicativi di una prolungata situazione di stress (^{188, 189}).

Beerda in un suo lavoro (²⁰²) afferma che un aumento di alcuni moduli comportamentali quali, scuotimento del corpo, accovacciarsi, uso della bocca, sbadiglio, agitazione e postura bassa sono indicatori comportamentali di uno stress acuto. L'intensità ed il tipo di risposta comportamentale ovviamente dipendono in modo molto stretto dallo stressor che lo ha causato. Stimoli causanti stress prevedibili dal cane (come ad esempio l'aprirsi di un ombrello) o che per verificarsi necessitano della presenza dell'uomo, inducono agitazione, posture moderatamente basse, frequenti scuotimenti del corpo e "comportamento orale" (²⁰²). Il cane risulta particolarmente sensibile ad alcuni stressor

(quali shock elettrici, scoppi improvvisi, borsa che cade) che ne causano posture molto basse, associati ad elevati livelli ematici di cortisolo (¹⁹², ²⁰³, ²⁰⁴, ²⁰⁵, ²⁰⁶). Non sorprende il fatto che non si manifestino, in questi casi, “comportamenti orali” (anche questi moduli comportamentali associati con forti stress), in quanto questi ultimi sono comportamenti tipici del contesto della vita sociale del cane (²⁰²). Ad esempio, leccarsi il muso (che è uno dei tanti “comportamenti orali”) può esprimere sottomissione in un ambiente sociale stressante (¹⁹⁷). Sotto quest’ottica non stupisce che in condizioni stressanti sperimentali, i “comportamenti orali” siano notevolmente aumentati quando lo stressor (ad esempio apertura di un ombrello o il contenimento fisico) richiede la presenza dello sperimentatore (²⁰²). Proprio a questo riguardo va quindi sottolineato che molti moduli comportamentali del cane hanno specifici significati comunicativi associabili a dei “segnali calmanti”. Questi sono circa una trentina (quelli conosciuti) e vengono spesso utilizzati dai cani per prevenire o interrompere qualcosa, ma anche per calmare se stessi quando si sentono stressati o a disagio, sia per trasmettere al destinatario del messaggio il proprio stato emozionale pacifico. Alcuni dei segnali calmanti sono: girare la testa, guardare altrove evitando uno sguardo diretto, socchiudere gli occhi, leccarsi il muso, sbadigliare, annusare (²⁰⁷). In conclusione, uno stato di stress acuto può essere individuato con la valutazione comportamentale ma dovrebbe essere analizzato considerando il tipo di stressor e le caratteristiche individuali del cane; la contemporanea valutazione dei parametri fisiologici può sicuramente essere di aiuto per evitare fraintendimenti (²⁰²).

Per quanta riguarda invece i moduli comportamentali espressi dai cani in seguito a stress cronico, gli studi risultano essere più problematici dal punto di vista applicativo, soprattutto per motivi etici. Infatti non è accettabile sottoporre gli animali a regimi stressanti tali da danneggiare drasticamente la loro salute (²⁰⁸). La maggior parte degli

studi su questo argomento sottopongono i cani a restrizioni spaziali e sociali (²⁰⁸, ²⁰⁹, ²¹⁰). Il cane è un'animale altamente sociale; la risposta comportamentale di un cucciolo separato dal suo ambiente e dal suo gruppo familiare è ben documentato (²¹¹, ²¹²). Malgrado tutto, la risposta fisiologica e comportamentale del cane adulto alla separazione è oggetto di numerosi studi (²⁰⁹). Rapporti clinici ed altre osservazioni descrivono gli effetti della separazione sul cane allevato in famiglia e suggeriscono come esso rimanga vulnerabile alla separazione per tutta la durata della sua vita (²¹³, ²¹⁴, ²¹⁵, ²¹⁶). Si è osservato che alcuni cani, giovani e adulti, similmente alla reazione di giovani primati, si mettono in mostra con vocalizzazioni e comportamenti distruttivi, apparentemente come “reazione di protesta”, immediatamente dopo l'allontanamento da parte del proprietario, una calorosa accoglienza al suo rientro ed una persistente vicinanza durante il resto del tempo (²¹⁵, ²¹⁶). I comportamenti distruttivi mostrati durante periodi di isolamento rappresentano un altro motivo per investigare sugli effetti della separazione in questi animali infatti rappresenta uno dei più frequenti problemi comportamentali in cani allevati in famiglia (²¹³).

Lo stress cronico indotto dall'isolamento sociale può determinare nel cane sia un'inattività (¹⁹⁹), che un aumento dell'attività motoria (²⁰⁰).

Alcuni studi hanno evidenziato come cani tenuti in ambienti disagiati mostrano per lo più un incremento dell'immobilità, del *grooming*, delle manipolazioni dell'ambiente, di movimenti ripetitivi (¹⁹⁹, ²⁰⁰), *circling*, leccarsi le zampe, sospirare (²⁰⁸), ma non quei tipi di comportamenti che sono associati alla paura. Lo studio di Beerda (²⁰⁸) ha inoltre evidenziato come le cattive condizioni climatiche le restrizioni spaziali e sociali aumentino la frequenza del *autogrooming*, *circling*, coprofagia, sollevamento della zampa anteriore, sospiri e vocalizzazioni a dimostrazione dello stato di stress. In conclusione i comportamenti più frequenti che si possono osservare in caso di stress

cronico e che possono essere utilizzati per il suo riconoscimento sono considerati essere: *autogrooming*, vocalizzazioni, frequente sollevamento della zampa anteriore, stereotipie (²⁰⁸).

III. MATERIALI E METODI:

L'obbiettivo del nostro lavoro è stato quello di valutare il benessere in 16 cani. Alcuni di questi hanno partecipato a progetti di *pet-therapy* con anziani, bambini affetti da disturbi pervasivi dello sviluppo o con entrambi. Le sedute con gli anziani si svolgevano in una stanza, riservata a questo scopo, nell'istituto che li ospitava; hanno partecipato al progetto 15 anziani, affetti da deficit neurologici di vari livelli (da medi a gravi). Le sedute con 25 bambini avevano luogo in una palestra in prefabbricato, sita nella facoltà di Medicina Veterinaria di Sassari adibita a questo scopo. Nel caso dei bambini, se le condizioni climatiche lo permettevano, le sedute venivano svolte anche all'aperto.

Le principali caratteristiche dei cani che hanno partecipato a questo studio sono riassunte nella tabella 2. Fra i cani che hanno partecipato a progetti di *pet-therapy* *Boris* e *Chia* hanno lavorato sia con i bambini che con gli anziani; *Oscar*, *Shila*, *Kira*, *Simba* hanno svolto attività solo con i bambini mentre *Apollo* e *Molly* solo con gli anziani.

Tabella 1: Principali caratteristiche dei Cani partecipanti al lavoro

Nome	Razza	Età	Sesso	N° Pasti	Ricovero	Pet- Therapy
Apollo	Meticcio	1 anno	M	2	Casa	SI
Aker	Cirneco dell'Etna	5mesi	M	2	Casa	NO
Bell	Labrador	3anni	F/S	2	Casa	NO
Burt	Labrador	1anno	M	2	Casa	NO
Boris	Pitt Bull	4anni	M	2	Casa	SI
Duma	Labrador	1anno	F	2	Casa	NO
Galana	Boxer	1,5anni	F	2	Box	NO
Jingle	Labrador	1anno	F	1	Box (F) ¹	NO
Chia	Labrador	2anni	F	2	Box (F)	SI
Kira	Borden Collie	4anni	F	2	Casa	SI
Lilli	Labrador	2anni	F	1	Casa	NO
Molly	Meticcio	1anno	F	2	Box (F)	SI
Oscar	Labrador	3anni	M	1	Casa	SI
Shila	Meticcio	2,5anni	F/S	1	Box (F)	SI
Simba	Pastore Tedesco	3anni	F	2	Casa	SI
Zenia	Boxer	2,5anni	F	2	Box	NO

¹ Box (F): Box della Facoltà di Medicina Veterinaria della dimensione di 6x4m², con una parte all'aperto ed una al chiuso al quale i cani possono accedere liberamente.

Per quanto riguarda le attività che venivano svolte durante le sedute, queste erano stabilite dal neuropsichiatra in base alle problematiche del paziente ed alle capacità da parte del cane di soddisfarne le richieste. Le attività svolte possono essere divise in 5 tipologie:

Condotta al guinzaglio:

Il fruitore metteva il guinzaglio e la pettorina al cane e faceva alcuni giri della palestra/sala con il cane al fianco al passo (anche trotto o galoppo nel caso dei bambini). Talvolta questa attività si svolgeva facendo passare il cane attraverso un percorso ad ostacoli formato da birilli. L'attività terminava con il fruitore che sganciava il guinzaglio dalla pettorina del cane.

Attività Ludiche:

Queste erano costituite principalmente dal lancio di un oggetto, frequentemente una pallina (ma anche oggetti quali birilli, pupazzi di gomma, riportelli di stoffa ecc.) da parte del fruitore e dal riporto allo stesso da parte del cane. Talvolta venivano organizzati anche giochi più complessi che richiedevano al cane attività di ricerca e soprattutto con i bambini con minori deficit psicomotori alcuni giochi di ruolo e finzione complessi e fantasiosi che richiedevano al cane un elevato grado di attenzione e/o concentrazione.

Attività et-epimeletiche:

Tra queste rientrano le attività di accudimento del cane, quali dar da mangiare e da bere; in queste attività era il fruitore a prendere le ciotole, a riempirle ed a invitare il cane a mangiare/bere quando aveva terminato la disposizione delle ciotole.

Tra queste attività rientra anche quella di spazzolare e accarezzare il cane; per queste ultime spesso il cane veniva invitato a sdraiarsi su un tappetino od a salire su di una sedia, dove veniva accarezzato/spazzolato.

Richieste:

Il fruitore, in questo tipo di attività, richiedeva al cane di svolgere alcune azioni, quali: sedersi, mettersi a terra, mostrare la pancia, dare la zampa, sollevarsi su due zampe, saltare, abbaiare ecc.

Attività di Relazione:

In questo gruppo rientrano tutte quelle attività nelle quali il fruitore si relazionava con il cane o con gli operatori presenti alla seduta, discorrendo con questi ultimi sulla specie canina, sulle sue caratteristiche etologiche e fisiologiche, sui racconti reali o di fantasia che avevano per protagonista un cane.

Durante le sedute venivano offerti ai cani anche dei premi (biscotti per cani, wurstel, bocconcini) che avevano il significato di rinforzare positivamente l'azione svolta in maniera corretta. Questi premi potevano essere dati al cane sia dal fruitore che dal *pet-partner*.

Per quanto riguarda l'alimentazione somministrata ai cani, per tutti era un alimento completo. Il pasto veniva somministrato alle 14 ed alle 20 se diviso in due somministrazioni; solo alle 14 per i cani che mangiavano una volta al giorno, fatta eccezione per Oscar al quale veniva somministrato alle 20. Durante tutto l'arco della giornata venivano somministrati ai cani piccoli *snack*. Per quanto riguarda lo stile di vita, i cani che vivevano in casa, uscivano dalle 4 alle 6 volte al giorno e spesso erano

coinvolti nelle attività dei proprietari avevano quindi un notevole bagaglio esperienziale. I cani che vivevano in ampi box, insieme ad altri cani (1 o 2), uscivano almeno 3 volte al giorno, fatta eccezione per *Shila* che usciva dal box verso le 13 per rientrare alle 19. Lo stile di vita di *Bell* e *Kira* risulta essere notevolmente differente da quello degli altri cani infatti *Bell* è un cane che vive con un bambino affetto da problemi psicofisici e svolge un lavoro assistenziale, mentre *Kira* è un cane dei Vigili del fuoco e svolge compiti di ricerca. Otto cani sono stati coinvolti nei progetti di *pet-therapy* mentre gli altri sono stati scelti come controllo al fine di valutare se durante le sedute di AAT si verificano delle situazioni di stress direttamente attribuibili a questo tipo di lavoro. Di questi sedici cani, dodici avevano avuto una preparazione cognitiva zooantropologica (²¹, ²²), mentre gli altri 4 (*Kira*, *Galana*, *Simba*, *Zenia*) avevano avuto un addestramento di tipo classico (*training* gentile) (²²). La partecipazione al numero di sedute al quale partecipava ogni cane erano valutate in base alla loro preparazione (che comprende anche il bagaglio esperienziale individuale del soggetto), alla patologia dei fruitori e quindi al tipo di attività che si presupponesse dovessero svolgere. Le sedute di *pet-therapy* avevano la durata di 30minuti ed erano individuali in quelle che coinvolgevano i bambini e si svolgevano dalle 15 alle 18 circa dal lunedì al venerdì; anche le sedute che coinvolgevano gli anziani avevano la durata di 30minuti circa ma potevano coinvolgere più fruitori all'interno di essa e si svolgevano la mattina dalle 10 alle 13 una volta alla settimana. Tra una seduta e l'altra erano previsti 10minuti di riposo.

Tutti i cani erano controllati dal punto di vista sanitario in quanto venivano sottoposti a visita clinica, esami di laboratorio e strumentali al fine di valutare lo stato sanitario ed escludere il rischio di zoonosi. L'esame radiografico del bacino e dei gomiti ci hanno rilevato la presenza di displasia dell'anca in *Jingle*, *Simba* e *Chia* e dei gomiti in *Duma*.

Al fine di valutare il benessere dei cani sono stati effettuati le seguenti indagini: visita clinica e comportamentale (prima che iniziassero i progetti di *pet-therapy* poi ogni 30giorni), tracciato elettroforetico proteine sieriche (TEF) (prima che iniziassero i progetti di *pet-therapy*) frequenza cardiaca (prima dell'inizio della seduta T0, durante T1, al termine T2 ed un'ora dopo il termine T4 della seduta di *pet-therapy* e valutata solo in *Simba, Kira, Oscar e Boris*), pressione ematica (al termine della seduta) dosaggio del cortisolo (prima dell'inizio dei progetti di *pet-therapy*, durante le sedute, alla fine del progetto), valutazione di alcuni enzimi, elettroliti e metaboliti ematici tra cui calcio, colesterolo, trigliceridi, AST, CPK, acido lattico, glucosio (prima dell'inizio dei progetti di *pet-therapy*, durante le sedute, alla fine del progetto), emocromo (prima dell'inizio dei progetti di *pet-therapy*, durante le sedute alla fine del progetto).

Poiché è dimostrato in modo chiaro come il campo esperenziale abbia un'importanza fondamentale anche nel determinare quali possano essere percepiti come stressanti determinati stimoli se non conosciuti (²¹⁷), è stata nostra cura far conoscere al cane il prelievo ematico, l'applicazione del cardiofrequenzimetro in situazioni di gioco al fine di non inficiare il nostro lavoro e nel tentativo di ottenere dati facilmente interpretabili.

Il prelievo ematico veniva effettuato dalla vena cefalica, venivano prelevati circa 10ml di sangue, di cui 1ml veniva posto in una provetta con K₃EDTA per effettuare l'emocromo e lo striscio ematico (che venivano subito eseguiti) tramite analizzatore automatico con tecnica citometrica a flusso laser (LaserCytes ®, Idexx Laboratoires), mentre la formula leucocitaria veniva ottenuto, tramite la lettura dello striscio, presso il Laboratorio di Diagnostica della sezione di Clinica Medica della Facoltà di Medicina Veterinaria di Sassari.

Il restante sangue intero veniva posto in una provetta e dopo 30 minuti circa veniva fatta centrifugare a 3000 giri per 15 minuti, al fine di ottenere il siero. Del siero così ottenuto,

una parte veniva inviato al laboratorio di analisi dell' Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna che effettuava il TEF su gel di acetato di cellulosa, tramite il macchinario GENIO® Interlab e la ricerca dei parametri ematici calcio, colesterolo, trigliceridi, AST, CPK (con il macchinario di biochimica clinica Siemens Dimension RxL). Due ml di siero venivano stoccati a -20°C per effettuare successivamente il dosaggio ematico del cortisolo (tramite test immunoenzimatico ELISA) e dell'acido lattico (tramite Pentra400 Horiba ®) presso un laboratorio di analisi privato. La glicemia è stata valutata al momento del prelievo con un sistema di monitoraggio del livello del glucosio ematico portatile, con l'utilizzo di strisce reattive (OneTouch® UltraEasy®). Per quanto riguarda *Simba* e *Kira* è stata valutata solo la frequenza cardiaca, ed i parametri ematici suddetti ma in tempi differenti rispetto al resto dei cani (fatta eccezione per il primo prelievo) Non è stata valutata la concentrazione ematica dell'acido lattico in quanto sono stati poi esonerati dallo svolgere il compito di coterapeuti: *Simba* perché durante l'ultima seduta svolta mostrava disagio e dolorabilità al treno posteriore, probabilmente legato alla displasia dell'anca; *Kira* perché non adeguatamente preparata per affrontare il ruolo di coterapeuta.

La frequenza cardiaca è stata valutata su undici sedute in *Boris* e *Oscar*, in tre in *Kira* e in cinque in *Simba*; tramite cardiofrequenzimetro (Polar Vantage XL®).

I prelievi ematici sono stati effettuati: su tutti i cani prima dell'inizio dell'attività di *pet therapy* (**BASALE**); durante le ultime sedute di *pet therapy* in giorni diversi, inoltre non tutti i cani erano impegnati nella seduta ma alcuni erano in seduta mentre altri fungevano da gruppo controllo. I cani del gruppo controllo comunque svolgevano un percorso di preparazione per cani coterapeuti. La divisione dei cani e dei giorni è indicata di seguito:

GRUPPO 1:

Boris, coterapeuta . Primo prelievo subito prima che iniziasse la seduta (**T1**); la temperatura era di 27°C con un'umidità del 46%. Il secondo prelievo (**T2**) è stato effettuato a metà della giornata di attività; la temperatura era di 32°C con un'umidità del 42%. Il terzo prelievo (**T3**) alla fine delle sedute ; la temperatura era di 32°C con un'umidità del 56%. Il quarto prelievo, un'ora dopo il termine del lavoro (**T4**); la temperatura era di 25°C con un'umidità del 45%. L'ultimo prelievo è stato effettuato alle ore 20. *Molly* era il “cane controllo”.

GRUPPO 2:

Oscar, coterapeuta. A **T1** la temperatura era di 28°C con un'umidità del 52%. A **T2** la temperatura era di 28°C con un'umidità del 46%. A **T3** la temperatura era di 30°C con un'umidità del 45%. A **T4** la temperatura era di 23°C con un'umidità del 54%. L'ultimo prelievo è stato effettuato alle ore 20. *Pollo* e *Jingle* rappresentavano i “cani controllo”.

GRUPPO 3:

Chia, co-terapeuta. In questa giornata per problemi tecnici sono stati effettuati solo i prelievi a T1 e T4. A **T1** la temperatura era di 23°C con un'umidità del 55%. A **T2** la temperatura era di 28°C con un'umidità del 45%. L'ultimo prelievo è stato effettuato alle ore 18. *Shila* e *Duma* rappresentavano i “cani controllo”.

Tutte le sedute di pet-terapy, sia quelle svolte con i bambini che quelle svolte con gli anziani venivano videoregistrate (per mezzo di una videocamera Sony HDR-SR10E). I filmati così ottenuti venivano poi elaborati e riversati su un computer (per mezzo del *software* Magix video Delux 15) per poi essere archiviati su dischi DVD. La videoregistrazione riguardava l'intera seduta, senza nessuna interruzione.

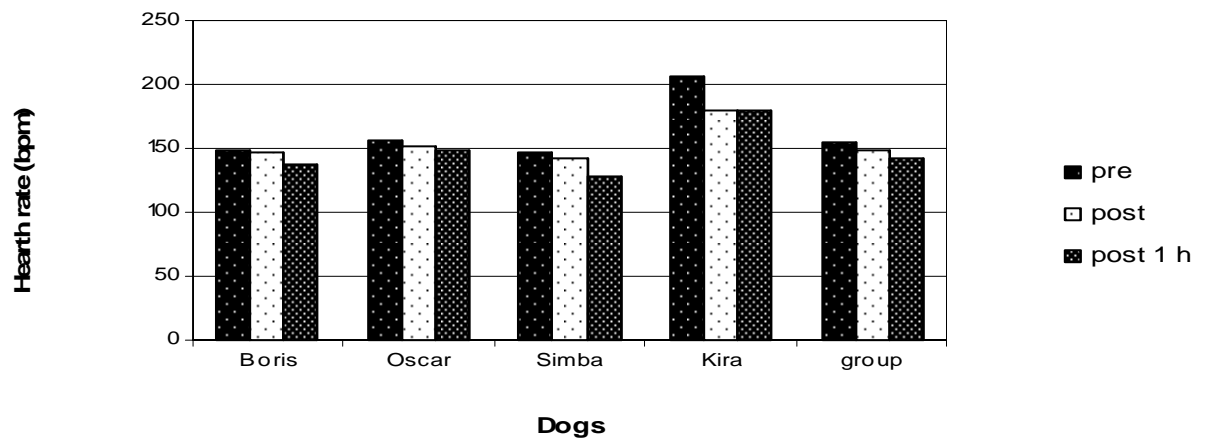
Durante la seduta era sempre presente un medico veterinario, un neuropsichiatra, un operatore per le riprese, oltre al cane con il suo *partner* ed il fruitore (talvolta durante le sedute dei bambini, un genitore). Il medico veterinario aveva il compito di osservare il comportamento del cane durante lo svolgimento della stessa e di annotare su apposite schede (vedi Appendice 1) le attività che venivano svolte, ciò che accadeva durante la seduta e tutti gli elementi necessari per la sua descrizione. Il filmato ottenuto, da ogni seduta veniva poi rivalutato in un secondo momento. Le osservazioni, venivano quindi effettuate al momento della seduta che successivamente per mezzo della videoregistrazione. Le osservazioni indirette, presentano il vantaggio di ottenere un gran numero di dati che possono essere rivisti e ricanalizzati in un secondo momento. Le osservazioni indirette sono poi particolarmente indicate per riosservare azioni molto rapide, che possono anche sfuggire durante la visione diretta, quelle particolarmente complesse o per analizzare sequenze comportamentali (²¹⁸).

IV. RISULTATI:

Dalla visita clinica effettuata mensilmente, si evidenziava in tutti i cani un buono stato di salute. Soltanto *Boris* durante il periodo dello studio, ha dovuto sospendere la sua attività per alcuni giorni a causa di alcuni episodi di diarrea che è stata trattata sintomatologicamente con frutto-oligosaccaridi e vitamine del gruppo B. La visita clinica, gli esami ematologici e coprologici hanno escluso l'eventuale presenza di malattie infettive ed infestive; il sospetto diagnostico è stato quindi quello di allergia o intolleranza alimentare. L'esclusione dalla dieta di carne bovina e suina hanno normalizzato la condizione di *Boris*, la reintroduzione di tali alimenti nella dieta ha riacutizzato la sintomatologia, confermando il sospetto diagnostico.

È stata valutata la frequenza cardiaca in undici sedute per *Boris* e *Oscar* in cinque per *Simba* e in tre per *Kira*, prima (T0), alla fine (T1) e dopo un'ora dalla fine (T2) di ogni seduta. La frequenza cardiaca di ogni singolo cane e quella media del gruppo, non differiscono in modo significativo da quelle registrate immediatamente e 1h dopo la fine della sessione: *Boris* (T0: 147.61±30.43 bpm; T1: 145.89±46.92 bpm; T2: 135.61±29.47 bpm); *Oscar* (T0: 156.21±35.95 bpm; T1: 150.64±35.08 bpm; T2: 148.64±27.85 bpm), *Simba* (T0: 146.67±33.20 bpm; T1: 142.33±35.97 bpm; T2: 127.73±26.05 bpm); *Kira* (T0: 205±48.06 bpm; T1: 180.50±55.62 bpm; T2: 179.17±54.99 bpm) e del gruppo (T0: 154.43±36.53 bpm; T1: 149.34±42.01 bpm; T2: 141.98±32.52 bpm). I dati ottenuti sono stati trattati statisticamente mediante tecnica ANOVA e sono mostrati nel grafico 1e sono stati presentati al IX congresso nazionale S.I.Di.L.V. (²¹⁹). Si può notare inoltre che in *Kira* una frequenza cardiaca superiore a quella degli altri tre cani, soprattutto quella iniziale.

Grafico 1

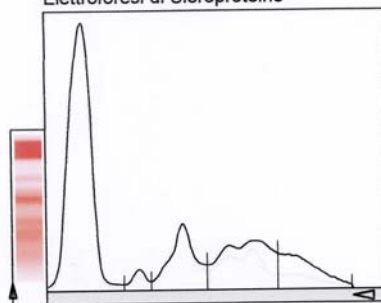


I tracciati elettroforetici delle proteine sieriche qui riportati erano normali in tutti i cani dello studio.

Nome OSCAR CLIN MED VET **ID Paziente** 51803
Data di nasc **Sesso** **Reparto** DR VISCO
Indirizzo CANINA
Striscia 1 **Tracciato** 6 **Frazioni** 5 **Letture(mm)** 27

Soggetto cane

Elettroforesi di Sieroproteine

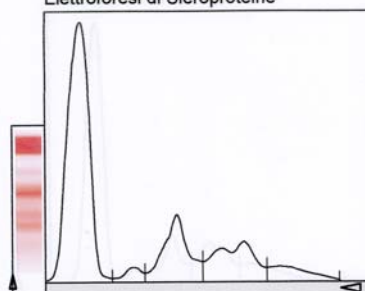


Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina	51,6	40,0-53,0	3,41
Alfa1	2,7	2,5- 4,5	0,18
Alfa2	13,8	9,0-17,3	0,91
Beta	20,7	14,5-27,5	1,37
Gamma	11,2	7,5-14,5	0,74
Prot. Tot.	6,60	(5,30- 8,30)	

Nome APOLLO CLIN MED VET **ID Paziente** 51803
Data di nasc **Sesso** **Reparto** DR VISCO
Indirizzo CANINA
Striscia 1 **Tracciato** 7 **Frazioni** 5 **Letture(mm)** 27

Soggetto cane

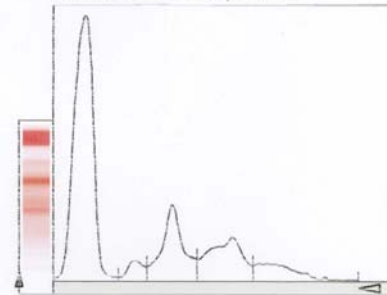
Elettroforesi di Sieroproteine



Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina ↑	58,1	40,0-53,0	3,95
Alfa1	2,8	2,5- 4,5	0,19
Alfa2	16,7	9,0-17,3	1,14
Beta	16,0	14,5-27,5	1,09
Gamma ↓	6,4	7,5-14,5	0,44
Prot. Tot.	6,80	(5,30- 8,30)	

Nome DUMA CLIN. MED. ID Paziente 51803
 Data di nasc Sesso Reparto DR VISCO
 Indirizzo CANINA
 Striscia 1 Tracciato 3 Frazioni 5 Lettura(mm) 30
 Soggetto cane

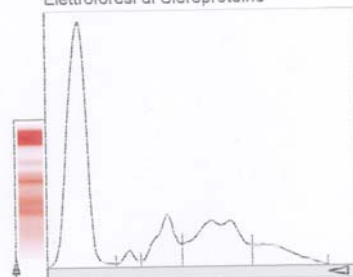
Elettroforesi di Sieroproteine



Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina ↑	55,4	40,0-53,0	3,99
Alfa1	3,8	2,5- 4,5	0,27
Alfa2	17,0	9,0-17,3	1,22
Beta	15,7	14,5-27,5	1,13
Gamma	8,1	7,5-14,5	0,58
Prot. Tot.	7,20	(5,30- 8,30)	

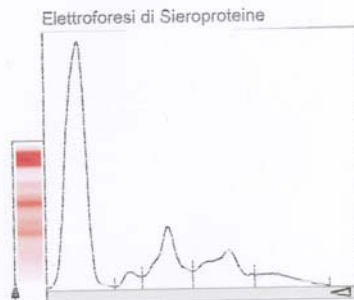
Nome BORIS CLIN. MED. ID Paziente 51803
 Data di nasc Sesso Reparto DR VISCO
 Indirizzo CANINA
 Striscia 1 Tracciato 1 Frazioni 5 Lettura(mm) 26
 Soggetto cane

Elettroforesi di Sieroproteine



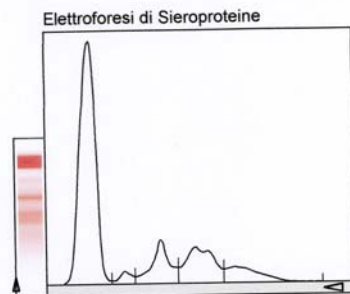
Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina	53,0	40,0-53,0	3,50
Alfa1 ↓	2,3	2,5- 4,5	0,15
Alfa2	11,8	9,0-17,3	0,78
Beta	23,7	14,5-27,5	1,56
Gamma	9,2	7,5-14,5	0,61
Prot. Tot.	6,60	(5,30- 8,30)	

Nome JINGLE CLIN. MED. ID Paziente 51803
 Data di nasc Sesso Reparto DR VISCO
 Indirizzo CANINA
 Striscia 1 Tracciato 2 Frazioni 5 Lettura(mm) 27
 Soggetto cane



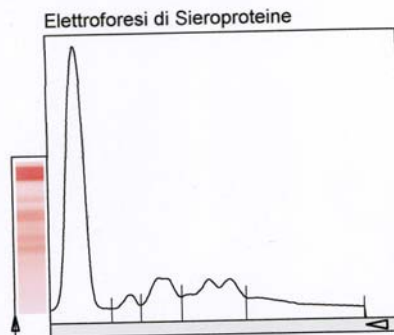
Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina ↑	58,4	40,0-53,0	3,33
Alfa1	3,5	2,5- 4,5	0,20
Alfa2	16,2	9,0-17,3	0,92
Beta	15,5	14,5-27,5	0,88
Gamma ↓	6,4	7,5-14,5	0,36
Prot. Tot.	5,70	(5,30- 8,30)	

Nome MOLLY CLIN MED VET ID Paziente 51803
 Data di nasc Sesso Reparto DR VISCO
 Indirizzo CANINA
 Striscia 1 Tracciato 8 Frazioni 5 Lettura(mm) 34
 Soggetto cane



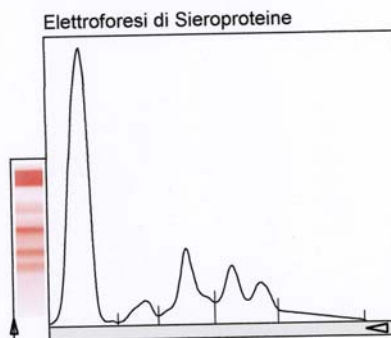
Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina ↑	61,3	40,0-53,0	3,86
Alfa1	2,6	2,5- 4,5	0,16
Alfa2	11,8	9,0-17,3	0,74
Beta	15,9	14,5-27,5	1,00
Gamma	8,4	7,5-14,5	0,53
Prot. Tot.	6,30	(5,30- 8,30)	

Nome 1-SHILA CL. MED. VET. **ID Paziente** 53611
Data di nasc **Sesso** **Reparto** DR COCCO
Indirizzo CANINA
Striscia 1 **Tracciato** 1 **Frazioni** 5 **Lettura(mm)** 33
Soggetto cane

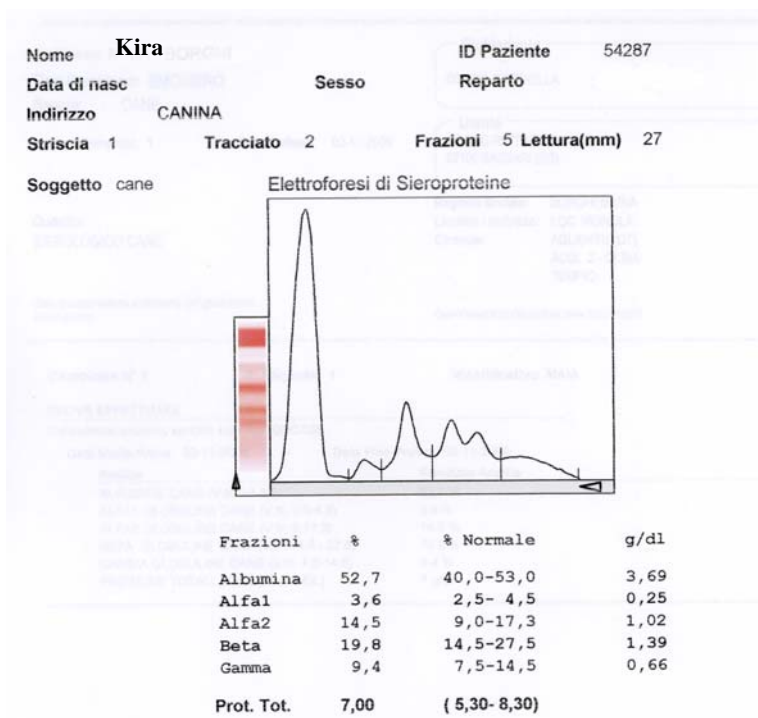
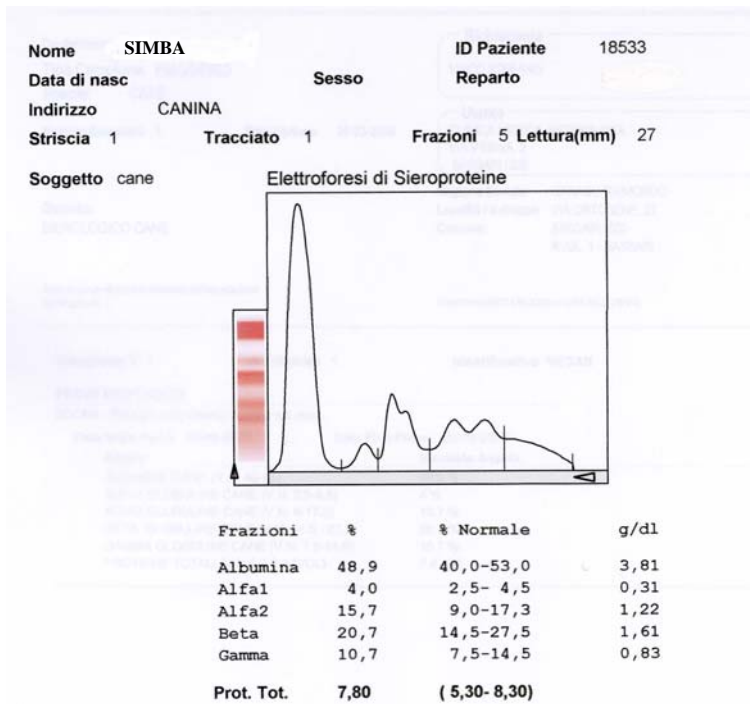


Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina	50,2	40,0-53,0	2,76
Alfa1 ↑	5,0	2,5- 4,5	0,28
Alfa2	11,4	9,0-17,3	0,63
Beta	17,6	14,5-27,5	0,97
Gamma ↑	15,8	7,5-14,5	0,87
Prot. Tot.	5,50	(5,30- 8,30)	

Nome 7-AKER CL. MED. VET. **ID Paziente** 53611
Data di nasc **Sesso** **Reparto** DR COCCO
Indirizzo CANINA
Striscia 1 **Tracciato** 7 **Frazioni** 5 **Lettura(mm)** 28
Soggetto cane

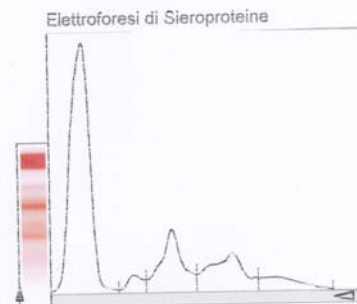


Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina ↑	54,8	40,0-53,0	3,07
Alfa1 ↑	5,2	2,5- 4,5	0,29
Alfa2	16,4	9,0-17,3	0,92
Beta	18,4	14,5-27,5	1,03
Gamma ↓	5,2	7,5-14,5	0,29
Prot. Tot.	5,60	(5,30- 8,30)	



Nome JINGLE CLIN. MED. ID Paziente 51803
 Data di nasc Sesso Reparto DR VISCO
 Indirizzo CANINA
 Striscia 1 Tracciato 2 Frazioni 5 Lettura(mm) 27

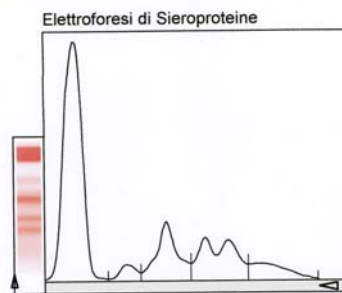
Soggetto cane



Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina ↑	58,4	40,0-53,0	3,33
Alfa1	3,5	2,5- 4,5	0,20
Alfa2	16,2	9,0-17,3	0,92
Beta	15,5	14,5-27,5	0,89
Gamma ↓	6,4	7,5-14,5	0,36
Prot. Tot.	5,70	(5,30- 8,30)	

Nome 8-CHIA CL. MED. VET. ID Paziente 53611
 Data di nasc Sesso Reparto DR COCCO
 Indirizzo CANINA
 Striscia 1 Tracciato 8 Frazioni 5 Lettura(mm) 27

Soggetto cane

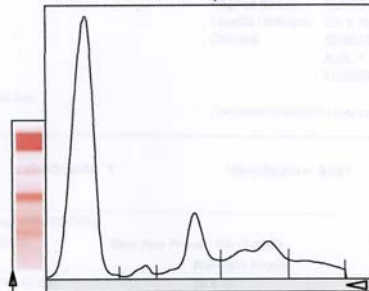


Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina ↑	55,3	40,0-53,0	3,43
Alfa1	3,6	2,5- 4,5	0,22
Alfa2	15,1	9,0-17,3	0,94
Beta	18,1	14,5-27,5	1,12
Gamma	7,9	7,5-14,5	0,49
Prot. Tot.	6,20	(5,30- 8,30)	

Nome BART ID Paziente 55409
 Data di nasc Sesso Reparto dr COCCO
 Indirizzo CANINA
 Striscia 1 Tracciato 3 Frazioni 5 Lettura(mm) 24

Soggetto cane

Elettroforesi di Sieroproteine

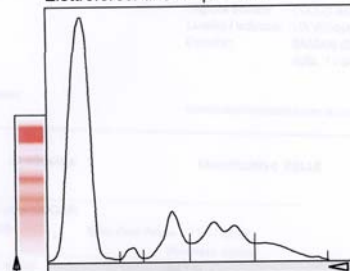


Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina ↑	58,6	40,0-53,0	3,81
Alfa1 ↓	2,4	2,5- 4,5	0,16
Alfa2	14,9	9,0-17,3	0,97
Beta	16,5	14,5-27,5	1,07
Gamma	7,6	7,5-14,5	0,49
Prot. Tot.	6,50	(5,30- 8,30)	

Nome BELLE ID Paziente 55983
 Data di nasc Sesso Reparto DR COCCO
 Indirizzo CANINA
 Striscia 1 Tracciato 4 Frazioni 5 Lettura(mm) 26

Soggetto cane

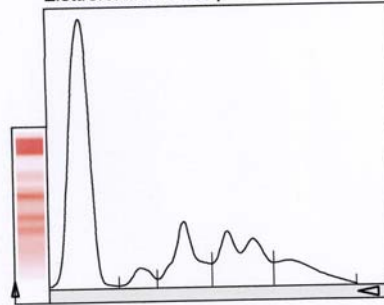
Elettroforesi di Sieroproteine



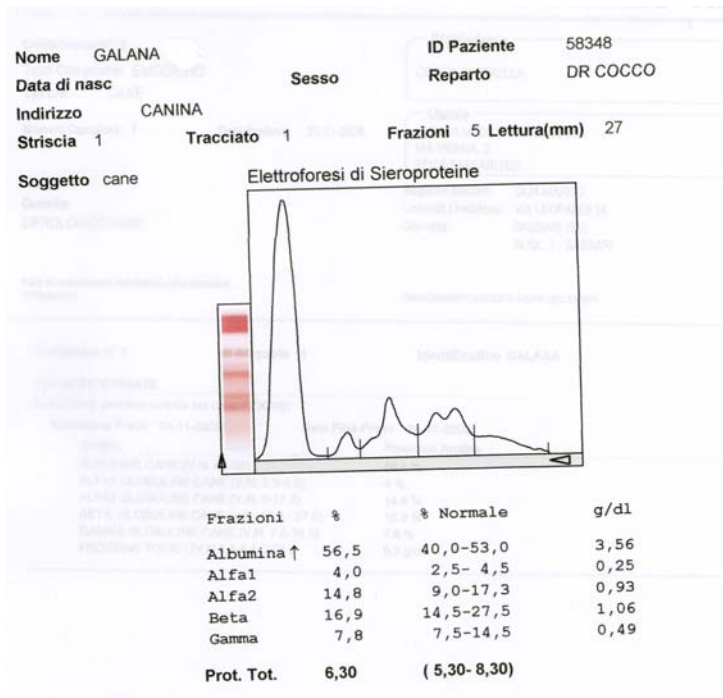
Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina ↑	60,1	40,0-53,0	4,09
Alfa1 ↓	2,3	2,5- 4,5	0,16
Alfa2	11,3	9,0-17,3	0,77
Beta	18,5	14,5-27,5	1,26
Gamma	7,8	7,5-14,5	0,53
Prot. Tot.	6,80	(5,30- 8,30)	

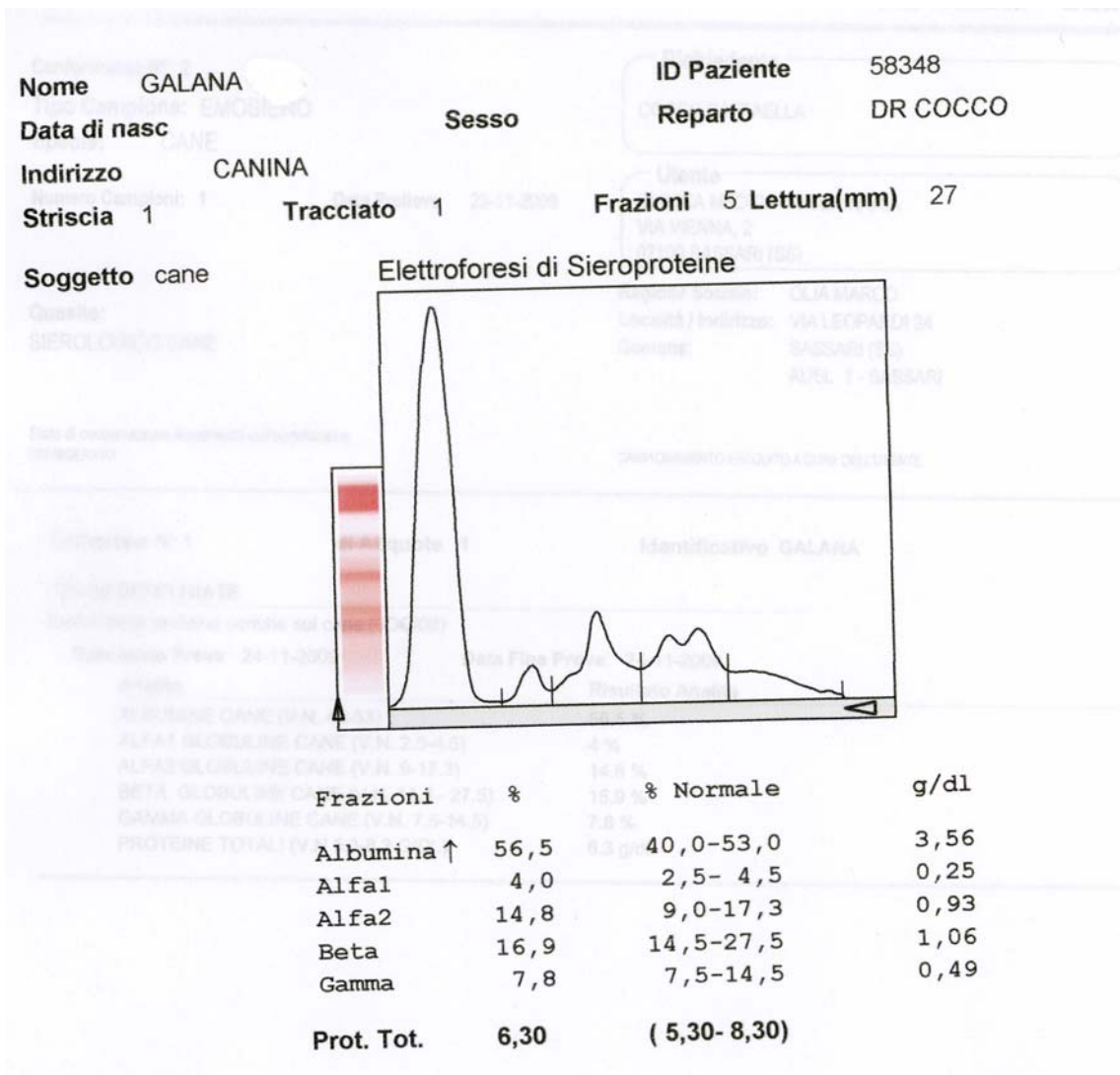
Nome 5-LILLY CL. MED. VET. **ID Paziente** 53611
Data di nasc **Sesso** **Reparto** DR COCCO
Indirizzo CANINA
Striscia 1 **Tracciato** 5 **Frazioni** 5 **Letture(mm)** 28
Soggetto cane

Elettroforesi di Sieroproteine



Frazioni	%	% Normale	g/dl
Albumina	52,1	40,0-53,0	3,33
Alfa1	3,9	2,5- 4,5	0,25
Alfa2	14,5	9,0-17,3	0,93
Beta	19,3	14,5-27,5	1,24
Gamma	10,2	7,5-14,5	0,65
Prot. Tot.	6,40	(5,30- 8,30)	





I valori degli esami ematici biochimici e dell'emocromo vengono indicati di seguito.

OSCAR							APOLLO					Valori di riferimento
	Basale	T1	T2	T3	T4		Basale	T1	T2	T3		
RBC (10 ¹² /L)	6,54	6,67	6,7	7,19	6,76	6,55	6,93	6,82	6,37	6,67	da 5,50 a 8,50	
HCT (%)	46,8	46,8	46,5	50,1	47,6	44,5	45,7	45,5	42,7	44,8	da 37 a 55,0	
HGB(g/dl)	16,9	16	15,5	16	15,1	16,1	14,8	14,9	13,5	14,4	da 12 a 18	
MCV(fl)	71,6	70,3	69,4	69,7	70,4	68	66	66,6	67	67,1	da 60 a 77	
MCH(pg)	25,8	23,98	23,12	22,22	22,42	24,6	21,39	21,81	21,14	21,54	da 18,50 a 30,00	
MCHC (g/dl)	36,1	34,1	33,3	31,9	31,8	36,2	32,4	32,7	31,5	32,1	da 30,0 a 37,5	
WBC (10 ⁹ /L)	11,89	14,48	13,57	13,91	13,06	12,33	14,19	12,28	12,83	12,88	da 5,50 a 16,90	
NEU(10 ⁹ /L)	8,6	8,1	8,95	9,4	9,14	7,57	9,28	7,98	9,49	9,01	da 2 a 12	
LYM(10 ⁹ /L)	2,8	3,76	3,1	2,64	2,74	3,66	3,54	3,56	2,95	3,6	da 0,50 a 4,90	
MONO(10 ⁹ /L)	1,08	1,15	1,11	0,8	0,5	0,81	1,13	0,6	0,19	0,12	da 0,30 a 2	
EOS(10 ⁹ /L)	0,34	1,4	0,34	0,97	0,65	0,17	0,18	0,12	0,19	0,12	da 0,10 a 1,49	
BAS(10 ⁹ /L)	0	0	0	0	0	0,07	0,06	0	0	0	da 0 a 0,10	
PLT(10 ⁹ /L)	361	316	321	309	246	302	322	307	299	268	da 175 a 500	

JINGLE						BORIS					Valori di riferimento
RBC (10 ¹² /L)	7,49	7,5	7,61	6,84	7,11	6,71	7,16	8,19	7,56	7,25	da 5,50 a 8,50
HCT (%)	46,3	47,1	47,5	43,1	45,5	44,5	49	55,4	51,7	49,4	da 37 a 55,0
HGB(g/dl)	17,2	15,4	15	13	14,4	16,4	15,7	17,5	16,9	15,8	da 12 a 18
MCV(fl)	61,8	62,9	62,5	62,9	64	66,3	68,5	67,7	68,4	68,1	da 60 a 77
MCH(pg)	23	20,48	19,76	19,06	20,18	24,5	21,92	21,38	22,32	21,76	da 18,50 a 30,00
MCHC (g/dl)	37,2	32,6	31,6	30,3	31,5	36,9	32	31,6	32,6	32	da 30,0 a 37,5
WBC (10 ⁹ /L)	10,55	13,54	12,26	12,54	12,56	8,05	9,85	12,2	12,7	12,12	da 5,50 a 16,90
NEU(10 ⁹ /L)	5,54	7,58	6,74	6,52	6,65	4,06	4,33	7,56	5,33	5,81	da 2 a 12
LYM(10 ⁹ /L)	3,71	3,79	4,29	4,76	4,64	2,53	3,25	1,83	3,81	3,75	da 0,50 a 4,90
MONO(10 ⁹ /L)	0,54	1,89	0,73	0,87	0,75	0,4	0,59	0,36	0,76	0,24	da 0,30 a 2
EOS(10 ⁹ /L)	0,69	0,2	0,49	0,37	0,5	0,95	1,67	2,44	2,79	2,3	da 0,10 a 1,49
BAS(10 ⁹ /L)	0,03	0	0	0	0	0,03	0	0	0	0	da 0 a 0,10
PLT(10 ⁹ /L)	417	376	365	380	363	291	272	260	252	273	da 175 a 500

	MOLLY					SHILA			Valori di riferimento
	Basale	T1	T2	T3	T4	Basale	T1	T4	
RBC (10 ¹² /L)	7,9	7,89	7,71	8,07	7,72	6,52	7,57	7,03	da 5,50 a 8,50
HCT (%)	52,4	52,1	50,7	53,6	51,5	44,7	50	46,2	da 37 a 55,0
HGB(g/dl)	16,5	16,3	17,2	16,3	16,4	16,5	16,1	15,6	da 12 a 18
MCV(fl)	66	66	65,7	66,5	66,7	68,6	66	65,8	da 60 a 77
MCH(pg)	20,8	20,6	22,9	20,21	21,19	25,3	21,23	22,16	da 18,50 a 30,00
MCHC (g/dl)	31,5	31,2	33,9	30,04	31,8	36,9	32,1	33,7	da 30,0 a 37,5
WBC (10 ⁹ /L)	11,2	10,71	11,11	10,69	11,37	7,68	7,47	9,84	da 5,50 a 16,90
NEU(10 ⁹ /L)	6,7	7,28	6,66	6,41	6,93	4,31	5,07	7,18	da 2 a 12
LYM(10 ⁹ /L)	3,37	2,46	3,66	3,52	3,52	2,26	1,56	1,86	da 0,50 a 4,90
MONO(10 ⁹ /L)	0,26	0,53	0,22	0,32	0,56	0,38	0,29	0,19	da 0,30 a 2
EOS(10 ⁹ /L)	0,44	0,42	0,55	0,42	0,34	0,99	0,52	0,59	da 0,10 a 1,49
BAS(10 ⁹ /L)	0	0	0	0	0	0,04	0	0	da 0 a 0,10
PLT(10 ⁹ /L)	280	294	296	323	265	337	253	297	da 175 a 500

CHIA	Duma			Duma			Valori di riferimento
	Basale	T1	T4	Basale	T1	T4	
RBC (10 ¹² /L)	6,83	7,29	6,52	6,95	7,95	7,17	da 5,50 a 8,50
HCT (%)	46,8	49,9	44,5	46,7	51,9	46,9	da 37 a 55,0
HGB(g/dl)	17,6	17,1	14	17,1	15,9	15,3	da 12 a 18
MCV(fl)	69,6	68,5	68,2	67,1	65,3	65,5	da 60 a 77
MCH(pg)	26,1	23,53	21,44	24,6	20,06	21,33	da 18,50 a 30,00
MCHC (g/dl)	37,6	34,4	31,4	36,7	30,7	32,6	da 30,0 a 37,5
WBC (10 ⁹ /L)	11,20	12,41	13,9	7,82	10,68	11,16	da 5,50 a 16,90
NEU(10 ⁹ /L)	6,28	7,44	8,61	3,97	5,34	6,58	da 2 a 12
LYM(10 ⁹ /L)	3,9	3,59	4,17	3,05	4,37	3,68	da 0,50 a 4,90
MONO(10 ⁹ /L)	0,41	0,74	0,55	0,48	0,2	0,78	da 0,30 a 2
EOS(10 ⁹ /L)	0,57	0,62	0,55	0,24	0,62	0,11	da 0,10 a 1,49
BAS(10 ⁹ /L)	0,04	0	0	0,07	0	0	da 0 a 0,10
PLT(10 ⁹ /L)	354	317	255	418	268	291	da 175 a 500

AKER	BELLE	LILLY	BURT	GALANA	ZENIA		
Basale	Basale	Basale	Basale	Basale	Basale	Valori di riferimento	
RBC (10 ¹² /L)	5,4	6,69	6,49	10,19	7,7	7,89	da 5,50 a 8,50
HCT (%)	36,9	51,4	44,1	6,67	56,4	53,3	da 37 a 55,0
HGB(g/dl)	13,7	15,3	16,5	15,8	19,2	19,2	da 12 a 18
MCV(fl)	68,3	76,8	67,9	69	72,6	67,6	da 60 a 77
MCH(pg)	25,3	22,8	25,5	23,7	24,7	24,4	da 18,50 a 30,00
MCHC (g/dl)	37,1	29,8	37,6	34,4	34	36	da 30,0 a 37,5
WBC (10 ⁹ /L)	12,57	9,42	12,72	6,67	10,5	10,27	da 5,50 a 16,90
NEU(10 ⁹ /L)	5,62	6,18	7,47	4,97	6,69	7,42	da 2 a 12
LYM(10 ⁹ /L)	6	2,26	3,36	3,6	2,51	1,86	da 0,50 a 4,90
MONO(10 ⁹ /L)	0,48	0,32	0,52	0,79	0,52	0,54	da 0,30 a 2
EOS(10 ⁹ /L)	0,39	0,6	1,3	0,75	0,74	0,4	da 0,10 a 1,49
BAS(10 ⁹ /L)	0,03	0,06	0,05	0,05	0,04	0,03	da 0 a 0,10
PLT(10 ⁹ /L)	407	385	284	50	271	177	da 175 a 500

SIMBA	KIRA		Valori di riferimento
	Basale	Basale	
RBC (10 ¹² /L)	7,54	7,98	da 5,50 a 8,50
HCT (%)	52	55,3	da 37 a 55,0
HGB(g/dl)	17,3	19,5	da 12 a 18
MCV(fl)	68,7	68,3	da 60 a 77
MCH(pg)	22,3	25,45	da 18,50 a 30,00
MCHC (g/dl)	34,39	35	da 30,0 a 37,5
WBC (10 ⁹ /L)	12,33	10,73	da 5,50 a 16,90
NEU(10 ⁹ /L)	7,2	6,75	da 2 a 12
LYM(10 ⁹ /L)	3,15	1,9	da 0,50 a 4,90
MONO(10 ⁹ /L)	0,88	0,5	da 0,30 a 2
EOS(10 ⁹ /L)	0,73	0,42	da 0,10 a 1,49
BAS(10 ⁹ /L)	0	0	da 0 a 0,10
PLT(10 ⁹ /L)	311	407	da 175 a 500

	Glicemia (mg/dL)	Cortisolo (ng/dl)	Acido Lattico (mmol/L)	CPK (UI/L)	AST (UI/L)	Colesterolo (mg/dL)	Trigliceridi (mg/dL)	Calcio (mg/dL)
Apollo								
Basale	90	85,4	2,6	138	35	164	108	8,9
T1	102	8,76	4,9	29	25	230	161	10,3
T2	79	27,36	7	57	35	220	195	9,6
T3	89	12,46	4,3	40	39	210	145	9,6
T4	82	5,88	3,2	70	37	210	103	9,6
Oscar								
Basale	88	37,28	1,9	34	37	156	32	9,7
T1	75	18,27	4,4	73	29	160	71	8,6
T2	75	17,45	3,5	43	40	159	71	8,8
T3	65	29,21	3,2	36	33	158	128	8,7
T4	84	32,95	2,8	75	31	152	101	8,7
Jingle								
Basale	80	21,35	3,1	69	28	274	55	9,6
T1	104	28,25	3,9	12	29	192	47	9,1
T2	80	27,5	3,5	17	32	210	50	9,6
T3	93	20,87	2,6	13	24	189	48	9,3
T4	86	21,97	3,1	13	26	195	57	9,5
VALORI RIFERIMENTO	da 70 a 110	da 10 a 60	da 0,22 a 1,44	da 40 a 450	da 20 a 72	da 50 a 350	da 23 a 100	da 7 a 11

	Glicemia (mg/dL)	Cortisolo (ng/dl)	Acido Lattico (mmol/L)	CPK (UI/L)	AST (UI/L)	Colesterolo (mg/dL)	Trigliceridi (mg/dL)	Calcio (mg/dL)
Boris								
Basale	85	20	1,5	115	30	129	18	8,6
T1	77	18,19	2,9	5	20	12	49	8,9
T2	64	11,75	5	12	33	180	52	9
T3	68	11,86	3,9	7	26	168	64	8,8
T4	84	12,35	2,4	6	23	164	122	8,7
Molly								
Basale	78	27	3	68	38	147	108	9,4
T1	63	8,39	6,1	57	44	155	110	9,6
T2	57	16,45	5,3	7	26	156	111	9,6
T3	94	26,92	4,7	105	58	127	135	8,9
T4	75	27,84	4,6	14	30	136	148	9,2
VALORI RIFERIMENTO	da 70 a 110	da 10 a 60	da 0,22 a 1,44	da 40 a 450	da 20 a 72	da 50 a 350	da 23 a 100	da 7 a 11

	Glicemia (mg/dL)	Cortisolo (ng/dl)	Acido Lattico (mmol/L)	CPK (UI/L)	AST (UI/L)	Colesterolo (mg/dL)	Trigliceridi (mg/dL)	Calcio (mg/dL)
Shila								
Basale	80	64,43	1,6	57	29	138	34	8,9
T1	98	164,71	6,4	31	80	185	138	9,2
T2	106	105,34	7,3	11	60	198	123	9,7
Duma								
Basale	80	10,8	4,6	102	67	242	83	10,2
T1	82	31,3	5,3	26	34	276	50	10,6
T2	80	36,06	6,6	24	37	238	78	9,6
Chia								
Basale	83	22,08	3,9	72	33	230	46	9,1
T1	76	36,92	4,1	54	33	266	70	10,9
T2	83	36,56	6	13	19	202	53	9,3
VALORI RIFERIMENTO	da 70 a 110	da 10 a 60	da 0,22 a 1,44	da 40 a 450	da 20 a 72	da 50 a 350	da 23 a 100	da 7 a 11

Simba	Glicemia (mg/dL)	Cortisolo (ng/dl)	Acido Lattico (mmol/L)	CPK (UI/L)	AST (UI/L)	Colesterolo (mg/dL)	Trigliceridi (mg/dL)	Calcio (mg/dL)
Basale	87	48,16	...	327	37	180	75	10,3
T1	85	70,67	...	330	28	177	84	9,8
T2	80	72,15	...	315	25	168	80	10,1
Kira								
Basale	79	65,4	...	420	38	190	99	8,8
T1	83	68,7	...	330	27	169	55	9
T2	77	60,15	...	312	29	150	90	9,2
Belle								
Basale	84	49,9	2,2	149	39	151	28	9,8
VALORI RIFERIMENTO	da 70 a 110	da 10 a 60	da 0,22 a 1,44	da 40 a 450	da 20 a 72	da 50 a 350	da 23 a 100	da 7 a 11

	Glicemia (mg/dL)	Cortisolo (ng/dl)	Acido Lattico (mmol/L)	CPK (UI/L)	AST (UI/L)	Colesterolo (mg/dL)	Trigliceridi (mg/dL)	Calcio (mg/dL)
Burt Basale	79	8,32	3,2	128	35	187	58	9,7
Lilli Basale	78	9,4	2,4	56	28	222	28	8,9
Aker Basale	81	7,6	1,9	386	41	281	128	9,9
Zenia Basale	77	25,7	5,9	235	25	235	44	8,5
Galana Basale	79	91,22	2,5	164	38	268	102	10,2
VALORI RIFERIMENTO	da 70 a 110	da 10 a 60	da 0,22 a 1,44	da 40 a 450	da 20 a 72	da 50 a 350	da 23 a 100	da 7 a 11

Dalle osservazioni dirette ed indirette delle sedute di AAT., sia quelle svolte con i bambini con disturbi pervasivi dello sviluppo (progetto della durata di 5 mesi), sia quelle con i fruitori anziani (progetto della durata di 3 mesi), sono stati raccolti i seguenti dati:

- *Boris* ha svolto 170 sedute con i bambini , per un tempo totale di 77, 28 h e 17 sedute con i fruitori anziani per un tempo totale di 5,48h. In nessuna di queste sedute ha mostrato alcun modulo comportamentale riferibile a stress.
- *Oscar* ha svolto complessivamente 85 sedute con i bambini per un tempo totale di 34,6 h. Durante queste sedute complessivamente ha mostrato 17 moduli comportamentali riferibili a stress (in una occasione ha sbadigliato, in una si è “accucciato”, in otto ha portato le orecchie verso il basso, in una ha presentato polipnea, una volta ha deambulato con zampe flesse, un’ altra ha eseguito movimenti veloci della testa, in quattro occasioni aveva un “atteggiamenti da evitamento”).
- *Shila* ha svolto 8 sedute con i bambini per un tempo totale di 2,71 h, mostrando moduli comportamentali riferibili a stress in 5 occasioni (una volta ha portato la coda fra le gambe, una volta ha abbaiato ed in tre occasioni aveva un “atteggiamento di evitamento”).
- *Simba* ha svolto 8 sedute con i bambini per un tempo totale di 2,88 h, tutte nei primi due mesi, prima di essere esonerata dall’attività di co-terapeuta, mostrando moduli comportamentali riferibili a stress in 8 occasioni, di cui 5 nella stessa seduta (quattro volte portava orecchie verso il basso e deambulava a zampe flesse, 3 volte si è leccata il muso, una volta ha portato le orecchie verso il basso).
- *Kira* ha svolto 9 sedute con i bambini e solo per i primi due mesi e mezzo, senza mai mostrare segni di stress.

- *Kia* ha svolto 15 sedute con i bambini per un tempo totale di 5,41 h e 15 sedute con gli anziani per un tempo totale di 5,8 h durante le quali non ha mai mostrato alcun modulo comportamentale riferibile a stress.
- *Apollo* ha svolto 27 sedute con i fruitori anziani, per un totale di 11,41 h, mostrando solo un comportamento riferibile a stress (“atteggiamento di evitamento”).
- *Molly* ha svolto 11 sedute con i fruitori anziani, per un totale di 4,28 h, in 7 occasioni ha mostrato moduli comportamentali riferibili a stress (tre volte si è “accucciata”, in due occasioni ha camminato in circolo, in una occasione evitava ed in una era sfuggente dalla situazione ambientale).

V. DISCUSSIONE :

Le analisi biochimiche e le valutazioni comportamentali dei cani presi in considerazione, hanno sottolineato alcuni dati interessanti che sostanzialmente confermano quello che si asserisce oggi in merito alla valutazione del benessere animale e cioè di quanto possa essere difficile valutarlo per il considerevole numero di variabili da esaminare quali ad esempio, specie animale, razza, sesso, età, temperamento, esperienze avute nel corso della vita, probabilmente anche fattori genetici (²¹⁴, ²¹⁵, ²¹⁶, ²¹⁷), oltre ovviamente alle situazioni stressanti in sé (²²⁰). Questi studi, mettono in risalto l'importanza della valutazione di più parametri, fisiologici e comportamentali, per quantificare al meglio lo stato di benessere degli animali. Dai nostri dati è emerso inoltre che alcuni cani mostrano un certo livello di stress indipendentemente dal coinvolgimento nella seduta di *pet therapy*, che in ogni caso non sembra determinare un ulteriore aumento dei valori della cortisolemia, ma talvolta addirittura una diminuzione. Analizzando in un primo momento solo i valori riferibili all'attività fisica si è messo subito in luce che durante il periodo di attività, la frequenza cardiaca era moderatamente alta (TO:154.43±36.53 bpm; T1: 149.34±42.01 bpm; T2: 141.98±32.52 bpm), il livello di glicemia da normale a basso (in Oscar e Boris), ed era presente un aumento significativo dell'ematocrito durante l'attività fisica che poi tornava a livelli basali dopo un'ora dallo svolgimento dell'attività; questi dati sono simili a quelli ottenuti in cani sottoposti a un "pesante" stress fisico (¹⁷³, ²²¹) fatta eccezione per le frequenze cardiache che in caso di estremo sforzo fisico possono raggiungere i 308 bpm (²²¹), nel nostro caso non hanno mai superato i 160bpm. Questi risultati ci hanno spinto

ad indagare maggiormente sullo stato di allenamento dei nostri cani e sui fattori che indicano il tipo e la qualità dell'attività muscolare.

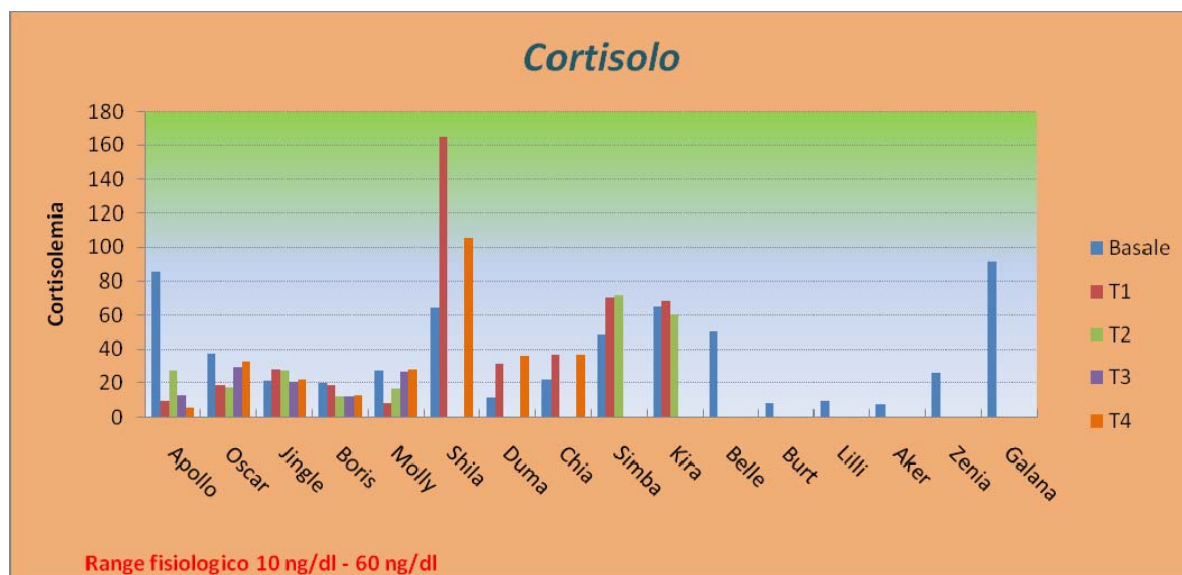
L'aumento del CPK può essere dovuto a gravi danni o sforzi muscolari, la diminuzione invece sia in caso di riposo che di sforzo muscolare intenso (²²², ²²³). Nel caso di un danno muscolare è ipotizzabile che parallelamente si abbia un aumento dell'AST. L'aumento del CPK e dell'AST non è stato invece riscontrato nei cani oggetto del nostro studio, fatta eccezione per *Shila*, nella quale si aveva un lieve aumento dell'AST che tornava nel *range* fisiologico 1h dopo l'attività fisica. Per quanto riguarda le concentrazioni ematiche di acido lattico, invece, abbiamo riscontrato anche in questo caso valori piuttosto elevati nella maggior parte dei cani, sia quelli impegnati in attività di coterapeuta che degli altri. Di questi gli unici che svolgevano un'attività fisica intensa erano *Zenia* e *Galana* che svolgevano 3 ore di esercizio fisico la mattina e la sera (corsa ed esercizi) e *Kira* (della quale però non abbiamo questo valore a causa del suo esonero). *Aker*, *Duma*, *Burt* e *Belle* non svolgevano alcuna attività fisica guidata. Tutti i cani venivano alimentati con mangimi commerciali ed erano in buone condizioni muscolo-scheletriche ed in un ottimo stato di nutrizione. Questi risultati meriterebbero sicuramente ulteriori indagini sia sul metabolismo muscolare ma soprattutto, a nostro avviso, nutrizionale. Sarebbe interessante valutare quanto ad esempio possa aver influito un'alimentazione priva di integratori alimentari di supporto per attività fisica, quali ad esempio la carnitina che non è presente nella maggior parte dei mangimi commerciali. Difatti alcuni studi hanno dimostrato come si abbia una riduzione degli indici di lattato in seguito ad integrazione alimentare con l-carnitina in varie razze, quali *Siberian Huskie* (²²⁴), *Setter Inglese* (²²⁵), *Pastore Tedesco* (²²⁶).

Riguardo i fattori che sicuramente influenzano il lavoro fisico, vi sono anche quelli ambientali e climatici che probabilmente hanno inciso negativamente sul lavoro fisico e

soprattutto sul fabbisogno energetico, variando la temperatura ambientale nei giorni dei prelievi ematici dai 23°C ai 33°C con un'umidità che si aggirava tra il 42% e il 56%.

Il valore al quale si attribuisce maggiore importanza per valutare lo stato di benessere del cane è la cortisolemia (²⁰²). La prima problematica che bisogna affrontare quando si vuole misurare la cortisolemia nel cane è quella dell'esistenza o meno di un ritmo circadiano in questa specie. A tale proposito noi ci troviamo in accordo con gli studi che hanno valutato la cortisolemia nell'arco di 24 h e non hanno evidenziato l'esistenza di un ritmo circadiano (^{227, 228, 229}). La seconda argomentazione è costituita dalla possibilità che il momento del prelievo ematico rappresenti di per sé un evento stressante, capace in tal modo di determinare un rialzo della cortisolemia. Ciò costituisce la ragione per cui in numerosi studi si preferisce valutarla per mezzo di tamponi salivari, campioni di urina, feci o pelo (^{202, 230, 231, 232}). Premesso che, secondo la nostra opinione, anche il prelievo dell'urina o della saliva per alcuni soggetti può essere causa di stress, abbiamo ridotto al minimo questo rischio effettuando il prelievo ematico in modo tale che il cane non lo percepisse come qualcosa di sgradevole o pericoloso per la propria incolumità, evitando il contenimento fisico ed eseguendo il prelievo solo in condizioni di tranquillità. Inoltre, sin dai primi mesi di vita, i nostri cani venivano portati spesso nell'ambulatorio veterinario della Clinica Medica della Facoltà di Medicina Veterinaria di Sassari (dove sono stati effettuati i prelievi) non solo per le visite o per le vaccinazioni, ma anche per socializzare con altri cani, svolgere attività ludiche, ricevere qualche carezza o bocconcino in modo che questa gli si presentasse come un luogo familiare e piacevole. Oltre a ciò anche gli eventi "sgradevoli", quali vaccinazioni o prelievi ematici erano preceduti e seguiti da situazioni piacevoli per il cane. Si può inoltre aggiungere che alcuni studi hanno mostrato come particolari situazioni o procedure sgradevoli possono determinare una risposta differente a seconda che l'animale abbia familiarizzato o meno con essa prima di affrontarla (^{233, 234, 235}). Ciò

è anche confermato dai valori della cortisolemia riscontrati che non appaiono influenzati dal prelievo. Nella grafico che segue vengono presentati i valori del cortisolo di tutti i cani esaminati:



Come si può notare, i valori particolarmente significativi sono quelli di *Shila*, *Galana*, *Apollo*, *Simba* e *Kira* mentre i valori degli altri cani seppur molto differenti tra loro rientrano comunque nel *range* fisiologico meritando comunque attenzione e dando spunti di riflessione.

Per quanto riguarda *Shila* c'è da aggiungere che ha mostrato, parallelamente ad una cortisolemia elevata, alcuni comportamenti riferibili a stress sia durante le sedute che nella vita quotidiana (frequenti posture basse - pacificatorie). Per questo motivo ha partecipato solo a sedute con bambini che non avevano gravi turbe comportamentali in modo molto dilazionato nel tempo (mai più di una seduta alla settimana). *Shila* è un cane femmina di 3 anni di razza meticcica (incrocio fra un Beagle ed un Epagneul Breton). Sino ai 4 mesi di età ha vissuto in un box esclusivamente con la madre, affetta

da una grave forma di Leishmaniosi che l'aveva portata alla cecità prima della nascita dei suoi due cuccioli. Sino ai due mesi non è quasi mai uscita dal box, se non saltuariamente, per effettuare visite cliniche in ambulatorio. Sino ai sei mesi di età il "compito" di Shila era quello di essere visitata dagli studenti durante esami o lezioni di Clinica Medica, dove non si esclude che abbia subito manipolazioni non sempre piacevoli. Senza alcun dubbio questo passato, nei primi mesi di vita, ha condizionato la sua visione dell'uomo. Infatti sono numerosi gli studi che mostrano come sia importante l'esperienza e come possa influenzare la reattività allo stress (²¹⁷). Inoltre, a causa della scarsa conoscenza dei co-specifici, durante i primi mesi di preparazione al ruolo di co-terapeuta, iniziata poco dopo i 6 mesi di età, mostrava incapacità a relazionarsi in modo corretto con i co-specifici, mostrando atteggiamenti di paura o tentando di mostrare una superiorità di *status*. Per questo motivo prima di essere inserita nelle sedute di *pet therapy* come co-terapeuta, che è avvenuto quando aveva circa l'anno e mezzo di età, ha svolto un periodo di educazione e di preparazione, che ha previsto il cambiamento del suo stile di vita, si è lavorato sull'arricchimento del suo bagaglio esperienziale tutelandola da possibili situazioni sgradevoli. Una cortisolemia così elevata può essere spiegata con il fatto che esperienze negative nei primi mesi di vita ne abbiano determinato una maggiore sensibilità allo stress e la abbiano indotta a mostrare risposte ormonali caratterizzate da alti livelli di ACTH e cortisolo, caratteristica che potrebbe perdurare per tutta la vita del soggetto (¹¹¹).

Molly pur conservando i valori del cortisolo ematico entro i limiti fisiologici, mostra un aumento della cortisolemia da 8,39 ng/dl al T1 a 27,94 ng/dl al T4. La valutazione comportamentale delle sedute ha rivelato un incremento di atteggiamenti di disagio durante le ultime sedute nelle quali aveva mostrato una situazione di malessere nei confronti dell'attività di co-terapeuta "accucciandosi", camminando in circolo e cercando di evitare o sfuggire dalla situazione dimostrando di non apprezzare questo

tipo di attività. Per tale motivo, circa due mesi prima del termine del progetto, è stata esonerata dall'attività coterapeutica. Alcuni studi (¹⁸⁸, ²³⁶) hanno sottolineato che particolari *stressor*, quali ad esempio i rumori, in certi soggetti (in entrambi i lavori erano cani di razza *Beagle*) seppur percepiti come sgradevoli, non determinavano come risposta un aumento della cortisolemia, ma solo una reazione comportamentale. Per tale ragione gli autori di questi lavori individuavano nelle risposte comportamentali indicatori più sensibili di *stress*. A questo proposito è interessante ricordare che negli animali, la separazione materna nei primi periodi di vita può influenzare la reattività allo *stress* del soggetto per tutto il resto della sua vita (²³⁷). *Molly* infatti è stata presa da un canile all'età di 2 mesi, dove era stata allevata e svezzata da una operatrice.

Dati interessanti sono emersi anche dalla cortisolemia e dalla valutazione del comportamento di *Simba*. Infatti in questo cane si sono mostrati comportamenti riferibili a stress nell'ultima seduta svolta, quali orecchie verso il basso e deambulazione a zampe flesse, leccamento del muso, orecchie portate verso il basso. Tali elementi, insieme ad una cortisolemia elevata, pensiamo possano essere attribuiti in gran parte alle condizioni fisiche non ottimali (displasia dell'anca).

Anche *Chia* è affetta da displasia dell'anca, per tale ragione, durante le sedute, si faceva in modo che non le venissero richieste attività che sollecitassero l'articolazione coxo-femorale e la muscolatura degli arti posteriori, quali ad esempio saltare o salire su una sedia ed il riporto della pallina veniva richiesto solo in rare occasioni e per tempi molto brevi. Riteniamo quindi questo il motivo per cui la cortisolemia sia rimasta all'interno del *range* fisiologico e tale soggetto non abbia mai mostrato alcun atteggiamento comportamentale riferibile a stress.

La cortisolemia elevata di *Kira* e *Galana* sono probabilmente da attribuire all'attività fisica e allo stress muscolare eccessivo che questi cani subivano per un allenamento intenso e non adeguato, non riferibile alle sedute di AAT, ma alla loro attività lavorativa

(*Kira*) e sportiva (*Galana*). *Kira* è stata poi esonerata dalle AAT perché oltre ad essere coinvolta in tale attività, svolgeva anche un lavoro di pubblico servizio che talvolta le richiedeva un grosso impegno fisico ed era preparata, a nostro avviso, in modo non conforme al rispetto del benessere animale. A conferma dell' assenza di un importante stato di stress dovuta alla sua attività di co-terapeuta vi è l'analisi comportamentale dalla quale non sono mai emersi segni di disagio. Al contrario però c'è da considerare che in *Burt*, *Lilli*, *Zenia*, *Aker*, *Duma* e *Jingle* la cortisolemia rientrava nel *range* fisiologico mentre presentavano tutti un'alta concentrazione di acido lattico. In particolar modo fanno riflettere e danno spunto per ulteriori studi sull'alimentazione e sulle esigenze nutrizionali dei cani sportivi, i dati emersi da *Zenia*, che vivendo insieme a *Galana*, svolgeva l'identica attività fisica ma alimentazione differente e presentava concentrazioni ematiche notevolmente più alte di acido lattico con una cortisolemia invece normale.

In *Apollo* sono emersi diversi elementi interessanti: un valore della cortisolemia basale particolarmente elevato e un *trend* di questa che tende a crescere con lo svolgimento dell'attività in cui era impegnato. Infatti è passato da una cortisolemia di 8,76 ng/dl a T1, ad una di 27,36 ng/dl a T2 per poi decrescere ed arrivare a 5,88 ng/dl a T4. In questo caso si osserva come lo svolgere attività simili a quelle effettuate nelle sedute (senza però esserci realmente) determina un rialzo momentaneo della cortisolemia. Si verifica così un'attivazione dell'asse Ipotalamo-Ipofisi-Surrene anche se solo per un breve periodo. In questo caso non abbiamo avuto un riscontro analogo nella osservazione del suo comportamento durante le sedute. Precisamente, anche se presentava spesso un livello di *arousal* medio-elevato, non ha mai mostrato comportamenti associabili a stress fatta eccezione per una unica occasione. Ciò avvalorava la tesi della difficoltà di interpretazione dei dati ottenuti che non sempre si confermano l'uno con l'altro.

Il contrario è emerso invece valutando la cortisolemia di Oscar che parte da valori di 18,27 ng/dl a T1 poi diminuisce a T2 anche se lievemente per poi raggiungere valori quasi doppi a quelli iniziali (32,95 ng/dl) un'ora dopo la fine della seduta. In Oscar inoltre si sono osservati dei comportamenti riferibili a stress durante le sedute, anche se da una attenta valutazione di questi si è notata principalmente la loro natura pacificatoria conseguente a “rimproveri” ricevuti da parte del pet partner. Inoltre c'è da aggiungere che Oscar presentava un livello di attivazione emozionale sempre molto alto. Per di più il suo compito di coterapeuta spesso era richiesto in sedute con bambini affetti da gravi problemi comportamentali. *Oscar*, sorprendentemente, dopo poco tempo ha imparato a riconoscere i bambini in questione e ad adottare dei comportamenti che garantissero la sua sicurezza. Per questo motivo quando si valuta il comportamento del cane durante la seduta bisogna sempre contestualizzare il comportamento alle situazioni ambientali creatasi, per non commettere degli errori di valutazione importanti. E' quindi probabile che i livelli di cortisolo di Oscar non siano elevati così come ci si poteva aspettare, per il fatto che, in base alla sua esperienza, era in grado di controllarle e prevedere questi eventi potenzialmente negativi e comportarsi di conseguenza, così come è stato provato da P.R. Wiepkema e J.M. Weiss (²³⁸, ²³⁹).

Una alta concentrazione di cortisolo ematico anche se all'interno del range fisiologico è stata rilevata in *Belle*. Questo dato meriterebbe maggiori approfondimenti considerando che il cane svolge l'importante compito di assistere costantemente un bambino con gravi deficit psicofisici con il quale vive. La sua situazione ambientale e il suo stile di vita potrebbero sottoporla a forti stress (non rilevabili con un singolo campione ematico). Nel caso specifico però riteniamo che l'alta concentrazione ematica di cortisolo sia imputabile alla sua momentanea separazione dalla famiglia; infatti il prelievo è stato fatto in un periodo in cui ci era stata momentaneamente affidata

a causa di un ricovero in ospedale del suo proprietario. Infine è interessante notare come in *Boris* la cortisolemia tenda a decrescere da T1 dove è di 18,19 ng/dl sino a T4 dove è di 12,35 ng/dl. Anche questo dato dà interessanti spunti per prossime ricerche: è facile pensare visto l'elevato grado di preparazione di questo cane che il semplice svolgimento dell'attività di co-terapeuta potrebbe avere un effetto gratificante ed avere così effetti benefici anche sul cane. Complessivamente raccogliendo i dati del cortisolo dei cani co-terapeuti, paragonandoli tra loro e considerando che i cani non erano impegnati in seduta quando sono stati fatti i prelievi si conclude che non è l'attività in sé a determinare i cambiamenti della cortisolemia tra i due gruppi di cani. Abbiamo anzi riscontrato valori maggiori nei cani non presenti in seduta e quindi sono fattori individuali quali l'esperienza, lo stato di salute, il proprio livello di attivazione emozionale ad influenzarne la concentrazione ematica.

Lo stato di stress denunciato dalla cortisolemia elevata riscontrata in alcuni cani non è stato talmente grave da determinare una immunosoppressione, né una situazione di stress acuto, non avendo osservato in nessuno neutrofilia e linfopenia, quali manifestazioni tipiche di stress acuto (¹¹⁸). Non abbiamo rilevato né iperglicemia, né tanto meno un eccessivo aumento del colesterolo e del calcio a livello ematico che potrebbero osservarsi in caso di uno stato di stress cronico. Questa constatazione è dovuta al fatto che l'evento stressante non era costantemente presente e non era di elevata intensità. Si può ipotizzare per *Shila*, *Molly*, *Simba* e *Apollo* una condizione di stress cronico non clinicamente manifesta, ma ipotizzabile dal variare di alcuni valori ematici.

L'unico parametro ematico anormale riscontrato è stato una eosinofilia marcata in *Boris*, spiegabile con una allergia alimentare ad alcune proteine presenti nella carne dei bocconcini che gli venivano offerti durante le sedute come rinforzo positivo. La

piastrinopenia di Burt non era reale, ma dovuta alla presenza di numerosi aggregati piastrinici.

VI. CONCLUSIONI:

Nel nostro lavoro abbiamo confermato la difficoltà di valutare lo stato di benessere nel cane e che per farlo sia assolutamente necessario considerare più parametri fisiologici e comportamentali. Valutandone solo pochi infatti si rischia di ottenere risultati ambigui e di difficile interpretazione. Inoltre anche in base a quello che è affiorato dal nostro lavoro è più corretto valutare i dati ottenuti non complessivamente ma nello specifico per ogni soggetto in modo da tener conto della sua razza, delle motivazioni, dell'età, del sesso e delle esperienze del singolo, in modo da poter eseguire correttamente l'analisi dei dati.

La valutazione dell'apparato cardiocircolatorio soprattutto in cani che svolgono un'attività fisica moderata se considerato come unico parametro è, a nostro avviso, difficilmente in grado di fornire informazioni sullo stato di benessere del cane mentre acquisisce maggiore importanza ed oggettività se valutato comparativamente alla concentrazione ematica di acido lattico, CPK ed AST. In tal modo fornisce informazioni sulle capacità muscolari e sulle condizioni di allenamento del soggetto in esame. Quest'ultimo punto rappresenta un elemento critico per il benessere del cane co-terapeuta, che spesso viene sottovalutato. Infatti dai nostri dati è apparso che la preparazione atletica dei cani era insufficiente e l'allenamento fisico mal condotto. Sarà obiettivo di futuri studi valutare quanto questo possa influenzare negativamente il benessere dei nostri cani e se esiste una correlazione tra stress muscolare e cortisolemia. E' nostra convinzione quindi che il benessere del cane co-terapeuta debba essere valutato sia in base alla cortisolemia, al comportamento mostrato in seduta e al di fuori

di essa, al benessere muscolare che consente al cane di svolgere la sua attività senza che presenti un eccessivo accumulo di acido lattico. Inoltre un esercizio intenso può determinare un'iperproduzione di radicali liberi ed in tal senso sarebbe interessante valutare se questo si verifica nei cani coterapeuti e se può influenzare, il suo stato di benessere.

Oltre a questo va sicuramente posta maggiore attenzione all'alimentazione che è strettamente legata all'attività muscolare e che probabilmente necessita di un più consistente apporto energetico ed una integrazione aminoacidica e vitaminica.

Altro punto molto rilevante emerso è che le esperienze di vita del cane possono rappresentare un forte limite allo svolgimento dell'attività di co-terapeuta e che è importante anche lo stato emozionale. Infatti un cane che ha subito traumi, soprattutto se durante i primi mesi di vita, sarà per tutta la sua vita un cane più sensibile di altri a possibili eventi stressanti. In tal senso siamo d'accordo con Later, Dawkins (²⁴⁰) e Duncan (²⁴¹) che sostengono che "il benessere dell'animale non si vede da come esso appare ma da come si sente". Detto ciò non vogliamo affermare che un cane nato ad esempio in un canile non potrà mai divenire un cane co-terapeuta, ma per esserlo avrà bisogno sicuramente di un periodo di preparazione più lungo e di un monitoraggio più attento soprattutto durante le sedute di AAA o AAT.

Abbiamo infine identificato un altro fattore di rischio per la salvaguardia del benessere: il presentarsi di patologie muscolo scheletriche (quali ad esempio le varie forme displasiche) che possono determinare l'esclusione del cane da progetti di *pet-therapy*. Per questo motivo è bene accertarsi che il cane portato in seduta sia sempre in condizioni di salute ottimali, per non rischiare di far peggiorare la patologia in atto, avere comportamenti pericolosi per il fruitore e far venir a mancare lo stato di benessere necessario.

VII. BIBLIOGRAFIA:

-
- ¹ Clutton-Brock J., *Origins of the dog: domestication and early history*. In Serpell J., *The domestic dog: its evolution, behaviour and interactions with people*. Cambridge, Cambridge University Press, 1995 (8-20).
- ² Verginelli F., Capelli C., Coia V., Musiani M., Falchetti M., Ottini L., Palmirota R., Tagliacozzo A., Mazzorin I.G., Mariani-Costantini R., *The origins of dogs: archaeozoology, genetics, and ancient DNA*. *Medicina nei Secoli*, 2006, 18(3):741-
- ³ De Rose A., Cascone A., Avino A.M., Verde C., Mozzarella C., Diodato S., *La pet therapy: risultati dell'esperienza nella ASL Napoli 5*. *Il Progresso Veterinario*, Ottobre 2007, 10(15).
- ⁴ Furci A., *Bambini "difficili" e pet Therapy a scuola*. www.psicopedagogika.it
- ⁵ Giaquinto S., Valentini F., *Is there a scientific basis for pet therapy?*. *Disability and rehabilitation* 2009; 31(7):595-8.review.
- ⁶ Friedmann E., Katcher A.H., Thomas S.A., Lynch J.J., Messent P.R., *Social interaction and blood pressure. Influence of animal companions*. *The Journal of nervous and mental disease*, 1983; 171(8):461-
- ⁷ Allen et al., *Pet ownership but not ACE inhibitor therapy, blunts home blood pressure responses to mental stress*. *Hypertension* 2001; 38:815-820.
- ⁸ Serpell J., *Beneficial effects of pet ownership on some aspects of human health and behaviour*. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 1991; 84:717-720.
- ⁹ Dembicki D., Anderson J., *Pet ownership may be a factor in improved health of the elderly*. *Journal of nutrition for the elderly* 1996; 15:15-31.
- ¹⁰ McNicholas J., Collis G.M. *Dogs as catalyst for social interaction: robustness of the effect*. *British journal of psychology* 2000; 91:61-70.
- ¹¹ Stasi M.F., Amati D., Costa C., Resta D., Senapa G., Scarafioti C., Aimonimo N., Molaschi M., *Pet-therapy: a trial for institutionalized frail elderly patients*. *Archives of gerontology and geriatrics. Supplement* 2004; 9:407-412.
- ¹² Colombo G., Buono M.D., Smania K., Raviola R., De Leo D., *Pet Therapy and institutionalized elderly: a study on 144 cognitively unimpaired subjects*. *Archives*

-
- of gerontology and geriatrics 2006; 42:207-216.
- ¹³ Ovid Technologies, Inc. *Email Service Strategies for managing behavioural symptomatology associated with dementia of the Alzheimer type: a systematic overview*. Copyright University of York, Vol.3, 2007.
- ¹⁴ Nathans-Barel I.,Feldman P., Berger B., Modai I., Silver H., *Animal-assisted therapy ameliorates anhedonia in schizophrenia patients. A controlled pilot study*. Psychotherapy and Psychosomatic 2005; 74:31-35.
- ¹⁵ LaFrance C. Garcia L.J., Labreche J., *The effect of a therapy dog on the communication skills on an adult with aphasia*. Journal of communication disorders 2007; 40;215-224.
- ¹⁶ Macauley B.L., *Animal-assisted therapy for persons with aplasia: A pilot study*. Journal of Rehabilitation Research & Development 2006; 43(3):357-366.
- ¹⁷ Redefer L.A., Goodman J.F., *Brief Report: Pet-Facilitated Therapy with autistic children*. Journal of Autism and Developmental Disorders 1989; 19(3):461-467.
- ¹⁸ Marchesini R., *La zooantropologia. Un nuovo modo di studiare la relazione uomo animale. Zooantropologia. Storia,etica e pedagogia dell'interazione uomo/animale*, FrancoAngeli Ed. 2003; 270-291.
- ¹⁹ Wilson E.O., *Sociobiology and Human Natur*. Harvard University Press 1978
- ²⁰ Catalani M.C., *Il valore della referenza animale per l'uomo*. Prisma 2004; 28:61-66.
- ²¹ Marchesini R.,Corona L., *Attività e terapie assistite dagli animali. L'approccio zooantropologico alla pet therapy*. Apeiron 2007.
- ²² Marchesini R., *Pedagogia cinofila. Introduzione all'approccio cognitivo zooantropologico*. Alberto Aerdisa Editore, Bologna 2007.
- ²³ Harrison R., *Animal Machine*. Stuart, Londra 1964.
- ²⁴ Gavinelli A., Ferrara M., *Il programma d'azione comunitario 2006-2010*. 30 giorni, anno I, Agosto 2008.
- ²⁵ Dedovic K., Duchesne A., Andrews J., Engert V.,Pruessner J.C., *The brain and the stress axis: The neural correlates of cortisol regulation in response to stress*. NeuroImage 2009; (47),864-871.
- ²⁶ Herman J.P.,Figueiredo H.,Mueller N.K.,Ulrich-Lai Y.,Ostrander M.M.,Choi D.C., Cullinan W.E., *Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness*. Frontiers in Neuroendocrinology 2003; 24(3):151-80.

-
- ²⁷ Selye H., *A syndrome produced by diverse noxious agent*. Nature 1936:32
- ²⁸ Selye H., *The evolution of the stress concept*. American Scientist 1973; 61:692-9.
- ²⁹ McEwen B.S., *Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load*. Annals of the New York Academy of Sciences 1998; 840:33-44
- ³⁰ Chrousos G.P., Gold P.W., *The concepts of stress system disorders: overview of behavioural and physical homeostasis*. JAMA, Journal American Medical Association 1992; 267:1244-52.
- ³¹ Panzera M., Albertini M., *Principi di adattamento e di stress*. In: Albertini M., Canali E., Cannas S., Ferrante V., Mattiello S., Panzera M., Verga M., *Etologia applicata e Benessere animale*, Point Veterinarie Italie 2008; 1:49-64.
- ³² Tsigos C., Chrousos G.P., *Hypothalamic- pituitary – adrenal axis, neuroendocrine factor and distress*. Journal of psychosomatic research 2002; (53), 865-871.
- ³³ Chrousos G.P., *Stressor, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response*. The 1997 Hans Selye memorial lecture. Annals of the New York Academy of Sciences 1998; 851:311-35.
- ³⁴ Berridge C., Waterhouse B., *The locus coeruleus_noradrenergic system: modulation of behavior state and state-dependent cognitive process*. Brain Research Reviews 2003; 42(1):33-84.
- ³⁵ Vale W., Spiess J., Rivier C., Rivier J., *Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and β endorphin*. Science 1981; 172:1394-1397.
- ³⁶ Sutton R., Koob G., Le Moal M., Rivier J., Vale W., *Corticotropin releasing factor produces behavioural activation in rats*. Nature 1982; 27,297(5864):331-3.
- ³⁷ Britton K.T., Lee G., Vale W., Rivier J., Koob G.F.; *Corticotropin releasing-factor (CRF) receptor antagonist blocks activating and anxiogenic action of CRF in the rat*. Brain Research 1986; 369:303-306.
- ³⁸ Dunn A.J., Berridge C.W., *Physiological and Behavioural responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses?*. Brain Research Reviews 1990; 15(2):71-100.
- ³⁹ Heinrichs S., Menzaghi F., Pich E., Britton K., Koob G., *The role of CRF in behavioral aspects of stress*. Annals of the New York academy of sciences 1995; 29; 771:92-104.
- ⁴⁰ Stenzel-Poore M.P., Heinrichs S.C., Rivest S., Koob G.F., Vale W.W., *Overproduction of corticotropin-releasing factor in transgenic mice: a genetic model of anxiogenic behavior*. Journal of Neuroscience 1994; (14) 2579-2584.

-
- ⁴¹ Dallman M., Akana S., Scribner K., *Stress, feed back and facilitation in the hypothalamo- pituitary- adrenal axis*. Journal Neuroendocrinology 1992; 4: 517-526.
- ⁴² La Brocca A., *Biochimica e fisiologia della corticale surrealianica (rassegna)*, LigandAssay 2006; (1) 11:10-18.
- ⁴³ LeDoux J. *The Amygdala*, Current Biology 2007; 17(20):868-74.
- ⁴⁴ Fanselow M.S., Poulos A.M., *The neuroscience of mammalian associative learning*. Annual Review of Psychology 2005; 56:207-34.
- ⁴⁵ Lang P.J., Davis M., *Emotion, motivation, and the brain: reflex foundations in animal and human research*. Progress in Brain Research 2006; 156:3-29.
- ⁴⁶ LeDoux J.E., *Emotion: clues from the brain*. Annual Review of Psychology 1995; 46:209-35.
- ⁴⁷ LeDoux J.E., *The emotional brain : The mysterious underpinnings of emotional life*. New York: Simon & Schuster. 1996; 384pp.
- ⁴⁸ Maren S., *Neurobiology of Pavlovian fear conditioning*. Annual Review Neuroscience 2001; 24:897-931.
- ⁴⁹ Maren S., *Synaptic mechanisms of associative memory in the amigdala*. Neuron 2005; 15; 47(6):783-6.
- ⁵⁰ Parè D., Quirk G.J., Ledoux J.E., *New vistas on amigdala networks in conditioned fear*. Journal of Neurophysiology 2004; 92(1):1-9.
- ⁵¹ Rodrigues S.M., Schafe G.E., LeDoux J.E., *Molecular mechanism underlying emotional learning and memory in the lateral amygdale*. Neuron 2004; 44:75-91.
- ⁵² Wilensky A.E., Schafe G.E., Kristensen M.P., LeDoux J.E., *Rethinking the fear Circuit: the central nucleus of the amygdale is required for the acquisition, consolidation, and expression of Pavlovian fear conditioning*. Journal of Neurophysiology 2006; 26:12387-96.
- ⁵³ Rodrigues S.M., LeDoux J.E., Sapolsky R.M., *The influence of stress hormones on fear circuitry*. Annual Review Neuroscience 2009; 32:289-313.
- ⁵⁴ LeDoux J.E., *Synaptic self: how our brains become who we are*. New York 2002: Viking. X. 406pp.
- ⁵⁵ Blanchard R.J., Blanchard D.C., *Crouching as an index of fear*. Journal of comparative and physiological psychology 1969; 67(3):370-5.
- ⁵⁶ Fendt M., Fanselow M.S., *The neuroanatomical and neurochemical basis of conditioned fear*. Neuroscience and biobehavioral reviews 1999 May; 23(5):743-60.

-
- ⁵⁷ Aston-Jones G., Cohen J.D., Adaptive gain and the role of the locus coeruleus-norepinephrine system in optimal performance. *The Journal of comparative neurology* 2005; 493(1):99-110.
- ⁵⁸ Ramos B.P., Arnsten A.F., Adrenergic pharmacology and cognition: focus on the prefrontal cortex. *Pharmacology & therapeutics* 2007; 113(3):523-36.
- ⁵⁹ Talarovicova A., Krskova L., Kiss A., *Some assessments of the amygdala role in suprahypothalamic neuroendocrine regulation: a minireview*. *Endocrine regulations* 2007; 41(4):155-62.
- ⁶⁰ Vidal-Gonzalez I., Vidal-Gonzalez B., Rauch S.L., Quirk G.J., *Microstimulation reveals opposing influences of prelimbic and infralimbic cortex on the expression of conditioned fear*. *Learning and Memory* 2006; 13:728-33.
- ⁶¹ Quirk G.J., Garcia R., González-Lima F., *Prefrontal mechanisms in extinction of conditioned fear*. *Biological Psychiatry* 2006; 60:337-43.
- ⁶² Rosenkranz J.A., Moore H., Grace A.A., *The prefrontal cortex regulates lateral amygdala neuronal plasticity and response to previously conditioned stimuli*. *Journal of Neuroscience* 2003; 23:11054-64.
- ⁶³ Sotres-Bayon F., Bush D.E., Le Doux J.E., *Emotional perseveration: an update on prefrontal-amygdala interactions in fear extinction*. *Learning and Memory* 2004; 11:525-35.
- ⁶⁴ Herman J.P., Ostander M.M., Mueller N.K., Figueiredo H., *Limbic system mechanisms of stress regulation: hipotalamo,-pituitary-adrenocortical axis*. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2005; 29:1201-1213.
- ⁶⁵ La Brocca A., Terzolo M., Pia A., Paccotti P., De Giuli P., Angeli A., *Recurrent thromboembolism as a hallmark of Cushing's Syndrome*. *Journal of Endocrinological Investigation* 1997; 20:211-214.
- ⁶⁶ Beerda B., Schilder M.B.H., Wilbert B., Van Hoff J.A.R.A.M., De Vries H.W., Mol J.A., *Chronic Stress in Dogs Subjected to Social and Spatial Restriction. II. Hormonal and Immunological Responses*, *Physiology & Behaviour*, 1999; 66(2):243-254.
- ⁶⁷ Agugini G., Beghelli V., Giulio L.F., *Fisiologia degli animali domestici con elementi di etologia*, UTET, Torino 1992; 712-718.
- ⁶⁸ Lukert B.P., Raisz L.G., *Glucocorticoid-induced osteoporosis : pathogenesis and Management*. *Rheumatic diseases clinics of North America* 1994; 20(3):629-50.
- ⁶⁹ Ader R., Felten D.L., Cohen N., *Psychoneuroimmunology*, Academic Press, San Diego 2001.

-
- ⁷⁰ Fontana A., Kristensen F., Dubs R., *Production of prostaglandin E and an interleukin-1 like factor by cultured astrocytes and C6 glioma cells*. Journal of Immunology 1982; 129(6):2413-9.
- ⁷¹ Fontana A., Weber E., Deyer J.M., *Synthesis of interleukin 1/endogenous pyrogen in the brain of endotoxin-treated mice: a step in fever induction?*. Journal of Immunology 1984; 133(4):1696-8.
- ⁷² Breder C.D., Dinarello C.A., Saper C.B., *Interleukin-1 immunoreactive innervation of the human hypothalamus*. Science 1988; 240,321-323.
- ⁷³ Paget P., *Patologia comportamentale del cane*, Le Point Vétérinaire Italie, Milano, 1999.
- ⁷⁴ Haourf F., Dantzer R., Dardenne M., Geenen V., Heijnen C., Kordon K., *Interaction neuro-immuno-endocriniennes. Aspects moléculaires*. Conférences Philippe Laudat, 1989, INSERM.
- ⁷⁵ Opp M., Krueger J.M., *Interleukin-1 receptor antagonist blocks interleukin-1 induced sleep and fever*. American Journal of Physiology 1991. 260, R453-R457.
- ⁷⁶ Laudenslager M. L., Ryan S.M., Drugan R.C., Hyson R.L., Maier S.F., *Coping and immunosuppression : inescapable but not escapable shock suppresses lymphocyte proliferation*. Science 198; 221:568-570.
- ⁷⁷ Gilman S.C., Schwartz J.M., Milner R.J., Bloom F.E., Feldman J.D. *Beta-endorphin enhances lymphocyte proliferative responses*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1982; 79(13):4226–4230.
- ⁷⁸ Kay N., Allen J., Morley J., *Endorphins stimulate normal human peripheral blood lymphocyte natural killer activity*. Life Science 1984; 35,53-59.
- ⁷⁹ Shavit Y. Martin F.C., Angarita G.M.L.H., Gale R.P., Liebeskind J.C., *Morphine induced suppression of natural killer (N.K.) cells is mediated by adrenal gland*. Society for Neuroscience Abstract 1986; 12,339.
- ⁸⁰ Fox B.H. Psychosocial factors and the immune system in human cancer . In R. Ader (Ed.), Psychoneuroimmunology, Accademic Press New York, 1981; 103-157.
- ⁸¹ Ben-Eliyahu S., Yirmiya R. Liebeskind J.C., Taylor A.N., Gale R.P., *Stress increases metastatic spread of mammary tumor in rats: evidence for mediation by the immune system*. Brain, Behavior, and Immunity, 1991; 5:193-205.
- ⁸² Cohen S., Tyrrell D.A.J., Smith A.P., *Psychological stress and susceptibility to the common cold*. The New England Journal of Medicine, 1991; 325:606-612.
- ⁸³ Glaser R., Pearl D.K., Kiecolt-Glaser J.K., Malarkey W.B., *Plasma cortisol levels and reactivation of latent Epstein-Barr virus in response to examination stress*. Psychoneuroendocrinology 1994; 19:765-772.

-
- ⁸⁴ Dhabhar F.S., Miller A.H., Stein M., McEwen B.S., Spencer R.L., *Diurnal and stress-induced changes in distribution of peripheral blood leukocyte subpopulation*. Brain, Behavior, and Immunity, 1994a; 8:66-79.
- ⁸⁵ Dhabhar F.S., Miller A.H., Stein M., McEwen B.S., Spencer R.L., *Effect of stress on immune cell distribution- dynamics and hormonal mechanism*. The Journal of Immunology 1995b, 154:1638-1644.
- ⁸⁶ Dhabhar F.S., Miller A.H., Stein M., McEwen B.S., Spencer R.L., *Stress-induced changes in blood leukocyte distribution - role of adrenal steroid hormones*. The Journal of Immunology 1996; 157:1638-1644.
- ⁸⁷ Dhabhar F.S., *Stress-induced enhancement of cell-mediated immunity: The role of hormones and leukocyte trafficking*. Doctoral Dissertation, Laboratory of Neuroendocrinology, The Rockefeller University, 1996, New York.
- ⁸⁸ Dhabhar F.S., McEwen B.S., *Stress-induced enhancement of antigen-specific cell-mediated immunity*. The Journal of Immunology 1996a; 156:2608-2615.
- ⁸⁹ Dhabhar F.S., *Stress-induced enhancement of cell-mediated immunity*. In S.M. McCann, J.M. Lipton, E.M. Sternberg et al. (Eds.), *Neuroimmunomodulation: Molecular, Integrative System and Clinical Advances*. Annals of New York Academy Sciences, 1997.840.
- ⁹⁰ Dhabhar F.S., McEwen B.S., *Acute Stress Enhances while Chronic Stress Suppresses Cell-Mediated Immunity in vivo: A potential Role for Leukocyte Trafficking*. Brain, Behavior, and Immunity 1997; 11:286-306.
- ⁹¹ Lysle D.T., Cunnick J.E., Rabin B.S., *Stressor-induced alteration of lymphocyte proliferation in mice: Evidence for enhancement of mitogenic response*. Brain, Behavior, and Immunity 1990; 4:269-277.
- ⁹² Wigger J.G., Reul, J.M.H.M., Holsboer F., De Kloet E.R., *Enhancement of rat splenic lymphocyte mitogenesis after short term exposure to corticosteroids in vitro*. Endocrinology 1994; 135:2351-2357.
- ⁹³ Lyte M., Nelson S.G., Thompson K.L., *Innate and adaptive immune responses in a social conflict paradigm*. Clinical Immunology and Immunopathology 1990; 57:137-147.
- ⁹⁴ Millar D.B., Thomas J.R., Pacheco N.D., Rollwagen F.M., *Natural killer cell cytotoxicity and T-cell proliferation is enhanced by avoidance behaviour*. Brain, Behavior, and Immunity 1993; 7:144-153.
- ⁹⁵ Mekaouche M., Givalois L., Barbanel G., Siaud P., Maurel D., Malaval F., Bristol A.F., Boissin J., Assenmacher I., Ixart G., *Chronic restraint enhances interleukin-1- β release in the basal state and after endotoxin challenge, independently of adrenocorticotropin and corticosterone release*. Neuroimmunomodulation 1994; 1:292-299.

-
- ⁹⁶ Petito J.M., Lysle D.T., Garipey J.L., Lewis M.H., *Association of genetic differences in social behavior and cellular immune responsiveness: Effect of social experience*. Brain, Behavior, and Immunity 1994; 8:111-122.
- ⁹⁷ Schleimer R.P., Claman H.N., Oronsky A., *Anti-inflammatory steroid action*. Accademic Press: San Diego 1989.
- ⁹⁸ Hetts S.W., *To die or not to die: an overview of apoptosis and its role in disease*. JAMA 1998; 279(4):300-7.
- ⁹⁹ Munck A., Guyre P.M., *Glucocorticoid physiology, pharmacology and stress*. Advances in Experimental Medicine and Biology 1986; 196:81-96.
- ¹⁰⁰ Monjan A.A., Collector M.I., *Stress-induced modulation of the immune response*. Science 1977; 196:307-308.
- ¹⁰¹ Shurin M.R., Zhou D., Kusnecov A., Rassnick S., Rabin B.S., *Effect of one or more footshocks on spleen and blood lymphocyte proliferation in rats*. Brain, Behavior, and Immunity 1994; 8:57-65.
- ¹⁰² Zalcman S., Anisman H., *Acute and chronic stressor effects on the antibody B. response to sheep red blood cells*. Pharmacology Biochemistry and Behavior 1993; 46:445-452.
- ¹⁰³ Vyas A., Mitra R., Shankaranarayana Rao B.S., Chattarji S., *Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons*. Journal of Neuroscience 2002; 22:6810-18.
- ¹⁰⁴ Vyas A., Jadhav S., Chattarji S., *Prolonged behavioural stress enhances synaptic connectivity in the baso-lateral amygdale*. Neuroscience 2006; 143:387-93.
- ¹⁰⁵ Vyas A., Bernal S., Chattarji S., *Effect of chronic stress on dendritic arborisation in the central and extended amygdale*. Brain Reserch 2003; 965:290-94.
- ¹⁰⁶ Vyas A., Chattarji S., *Modulation of different states of anxiety-like behaviour by chronic stress*. Behavioral Neuroscience 2004; 118:1450-54.
- ¹⁰⁷ Mitra R., Jadhav S., McEwen B.S., Vyas A., Chattarji S., *Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amigdala*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2005; 102:9371-76.
- ¹⁰⁸ Mitra R., Sapolsky R.M., *Acute corticosterone treatment is sufficient to induce anxiety and amygdaloid dendritic hypertrophy*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2008; 105:5573-78.
- ¹⁰⁹ Joels M., de Kloet E.R., *Effects of glucocorticoids and norepinephrina on the excitability in the hippocampus*. Scientia 1989; 245(4925):1502-1505.

-
- ¹¹⁰ McEwen B.S., Plasticity of the hippocampus: adaptation to chronic stress and allostatic load. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2001; 933:265-277.
- ¹¹¹ Pruessner J.C., Dedovic K., Pruessner M., Lord C., Buss C., Collins L., Dagher A., Lupien S.J., *Stress regulation in the central nervous system: Evidence from structural and functional neuroimaging studies in human populations* . *Psychoneuroendocrinology* 2009; doi:10.1016/j.psyneuen.2009.02.016
- ¹¹² Gilbertson M.W., Shenton M.E., Ciszewski A., Kasai K., Lasko N.B., Orr S.P., Pitman R.K., *Smaller hippocampal volume predicts pathologic vulnerability to psychological trauma*. *Nature neuroscience* 2002; 5(11):1242-1247).
- ¹¹³ Starkman M.N., Gebarski S.S., Berent S., Schteingart D.E., *Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patient with Cushing's syndrome*. *Biological Psychiatry* 1992; 32:756-765.
- ¹¹⁴ Bremner J.D., Randall P., Scott T.M., Bronen R.A., Seibyl J.P., Southwick S.M., Delaney R.C., McCarthy G., Charney D.S., Innis R.B., *MRI-based measurement of hippocampal volume in patients with combat-related posttraumatic stress disorder*. *The American journal of psychiatry* 1995; 152(7):973-81.
- ¹¹⁵ Gurvits T.V., Shenton M.E., Hokama H., Ohta H., Lasko N.B., Gilbertson M.W., Orr S.P., Kikinis R., Jolesz F.A., McCarley R.W., Pitman R.K., *Magnetic resonance imaging study of hippocampal volume in chronic combat-related posttraumatic stress disorder*. *Biological Psychiatry* 1996; 40:1091-1099.
- ¹¹⁶ Lupien S.J., de Leon M.J., De Santi S., Convit A., Tarshish C., Nair N.P.V., McEwen B.S., Hauger R.L., Meaney M.J., *Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficit*. *Nature neuroscience* 1998; 1:69-73.
- ¹¹⁷ Vythilingam M., Heim C., Newport J., Miller A.H., Anderson E., Bronen R., Brummer M., Staib L., Vermetten E., Charney D.S., Nemeroff C.B., Bremner J.D., *Childhood trauma associated with smaller hippocampal volume in women with major depression*. *American Journal of Psychiatry* 2002; 159:2072-2080.
- ¹¹⁸ Frodl T., Meisenzsche E.M., Zetsche T., Born C., Groll C., Jager M., Leinsinger G., Bottlender R., Hahn K., Moller H.J., *Hippocampal changes in patients with a First episode of major depression* . *American Journal of Psychiatry* 2002b; 159:1112-1118.
- ¹¹⁹ Merlala E., Fhor J., Kononen M., Valkonen-Korhonen M., Vainio P., Partanen K., Partanen J., Tiihonen J., Viinamaki H., Karjalainen A.K., Lehtonen J., *Quantitative MRI of the hippocampus and amygdala in severe depression*. *Psychological Medicine* 2000; 30:117-125.
- ¹²⁰ Steffens D.C., Byrum C.E., McQuoid D.R., Greenberg D.L., Payne M.E., Blitchington T.F., MacFall J.R., Krishnan K.R., *Hippocampal volume in geriatric depression*. *Biological Psychiatry* 2006; 48:301-309.

-
- ¹²¹ MacQueen G.M., Campbell S., McEwen B.S., Macdonald K., Amano S., Joffe R.T., Nahmais C., Young L.T., *Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2003; 100:1387-1392.
- ¹²² Sheline Y.I., Sanghavi M., Mintun M.A., Gado M.H., *Depression duration but not age predicts hippocampal volume loss in medically healthy women with recurrent major depression*. The Journal of neuroscience 1999; 19:5034-5043.
- ¹²³ McEwen B.S., Magarinos A.M., *Stress and hippocampal plasticity: implication for the pathophysiology of affective disorders*. Human Psychopharmacology 2001; 16:S7-19
- ¹²⁴ McEwen B.S., *Mood disorders and allostatic load*. Biological Psychiatry 2003; 54:200-207.
- ¹²⁵ Bramner J.D, Narayan M., Anderson E.R., Staib L.H., Miller H.L., Charney D.S., *Hippocampal volume reduction in major depression*. The American journal of psychiatry 2000; 157:115-118.
- ¹²⁶ Frodl T., Meisenzahl E., Zetzsche T., Bottlender R., Born C., Groll C., Jager M., Leinsinger G., Hahn K., Moller H.J., *Enlargement of the amygdala in patient with a first episode of major depression*. Biological Psychiatry 2002a; 51:708-714.
- ¹²⁷ Shine Y.I., Gado M.H., Price J.L., *Amygdala core nuclei volume are decreased in recurrent major depression*. NeuroReport 1998; 9:2023-2028.
- ¹²⁸ Von Gunten A., Fox N.C., Cipollotti L., Ron M.A., *A volumetric study of hippocampus and amygdala in depressed patients with subjective memory problems*. The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences 2000; 12:493-498.
- ¹²⁹ Sheline Y.I., Wang P.W., Gado M.H., Csernansky J.G., Vannier M.W., *Hippocampal atrophy in recurrent major depression*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1996; 93:3908-3913.
- ¹³⁰ Reagan L.P., Grillo C.A., Piroli G.G., *The As and Ds of stress: Metabolic, morphological and behavioural consequences*. European Journal of Pharmacology 2008; 585:64-75.
- ¹³¹ Sapolsky R., *Stress, the aging brain, and the mechanism of neuron death*. MIT press, Cambridge 1992.
- ¹³² Landfield P., Baskin R.K., Pitler T.A., *Brain-aging correlates: Retardation by hormonal-pharmacological treatments*. Science 1981; 214:581-583.
- ¹³³ Landfield P., Waymire J., Lynch G., *Hippocampal aging and adrenocorticoids: Quantitative correlations*. Science 1990; 202:1098-1102.
- ¹³⁴ Issa A., Gauthier S., Meaney M.J., *Hypothalamic-pituitary-adrenal activity in aged*

-
- cognitively impaired and cognitively unimpaired aged rats*. The Journal of Neuroscience 1990; 10:3247-3254.
- ¹³⁵ Squire L.R., Memory and hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys and human. Psychological Review 1992; 99:195-231.
- ¹³⁶ Starkman M.N., Gebarski S.S., Berent S., Schteingart D.E., *Hippocampal formation volume, memory dysfunction and cortisol levels in patients with Cushing's syndrome*. Biological psychiatry 1992; 32:756-765.
- ¹³⁷ Davis K.L., Davis B.M., Greenwald B.S., Mohs R.C., Mathé A.A., Johns C.A., Horvath T.B., *Cortisol and Alzheimer's disease, I: Basal studies*. The American journal of psychiatry 1986; 143:300-305.
- ¹³⁸ Lupien S.J., de Leon M., De Santi S., Convit A., Tarshish C., Nair N.P.V., Thakur M., McEwen B.S., Hauger R.L., Meaney M.J. *Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits*. Nature Neuroscience 1998; (1)1: 69-73.
- ¹³⁹ DeKloet E.R., *Brain corticosteroid receptor balance and homeostatic control*. Frontiers in neuroendocrinology 1991; 12:95-123.
- ¹⁴⁰ Fischette C.T., Komisurak B.R., Ediner H.M., Feder H.H., Siegal A., Differential fornix ablation and the circadian rhythmicity of adrenal corticosterone secretion. Brain research 1980; 195:373-380.
- ¹⁴¹ Brown S.M., Henning S., Wellman C.L., *Mild, short-term stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex*. Cerebral cortex 2005; 15:1714-22.
- ¹⁴² Cook S.C., Wellman C.L., *Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex*. Journal of Neurobiology 2004; 60:236-48.
- ¹⁴³ Czeh B., Perez-Cruz C., Fuchs E., Fugge G., *Chronic stress-induced cellular changes in the medial prefrontal cortex and their potential clinical implications: Does hemisphere location matter?* Behavioural brain research 2008; 190:1-13.
- ¹⁴⁴ Conrad C.D., LeDoux J.E., Magarinos A.M., McEwen B.S., *Repeated restraint stress facilitates fear conditioning independently of causing hippocampal CA3 dendritic atrophy*. Behavioral neuroscience 1999; 113:902-13.
- ¹⁴⁵ McEwen B.S., *Stress and hippocampal plasticity*. Annual review of neuroscience 1999; 22:105-22.
- ¹⁴⁶ Sosa N., Lukoyanov N.V., Madeira M.D., Almeida O.F.X., Paula-Barbosa M.M., *Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement*. Neuroscience 2000; 97:253-66.
- ¹⁴⁷ Radley J.J., Rocher A.B., Janssen W.G., Hof P.R., McEwen B.S., Morrison J.H., *Reversibility of apical dendritic retraction in the rat medial prefrontal cortex*

-
- following repeated stress*. *Experimental neurology* 2005; 196:199-203.
- ¹⁴⁸ Vyas A., Pillai A.G., Chattarji S., *Recovery after chronic stress fails to reverse amygdaloid neuronal hypertrophy and enhanced anxiety-like behavior*. *Neuroscience* 2004; 128:667-73.
- ¹⁴⁹ Agugini G., Beghelli V., Giulio L.F., *Fisiologia degli animali domestici con elementi di etologia*, UTET, Torino 1992; 45-103.
- ¹⁵⁰ Aquin L., Banchemo N., *The cytoarchitecture and capillary supply in the skeletal muscle of growing dog*. *Journal of Anatomy* 1981; 132:341-356.
- ¹⁵¹ Braund K.G., Hoff E.J., Richardson E.Y., *Histochemical identification of fiber types in canine skeletal muscle*. *American journal of veterinary research* 1978; 39:561-565.
- ¹⁵² Gunn H.M., *Differences in the histochemical properties of skeletal muscles of different breeds of horse and dog*. *Journal of Anatomy* 1978; 127:615-634.
- ¹⁵³ Hoh J.F.Y., Kim Y., Lim J.H.Y., Sieber L.G., Lucas C.A., Zhong W.W.H., *Marsupial cardiac myosins are similar to those of eutherians in subunit composition and in the correlation of their expression with body size*. *Journal of comparative physiology. B, Biochemical, systemic, and environmental physiology* 2007; 177(2):153-63.
- ¹⁵⁴ Maxwell L.C., Barclay J.K., Mohrman D.E., Faulkner J.A., *Physiological characteristics of skeletal muscles of dogs and cats*. *American journal of physiology. Cell physiology* 1977; 233:C14-C18.
- ¹⁵⁵ Trevino G.S., Demaree R.S.J., Sanders B.V., O'Donnel T.A., *Needle biopsy of skeletal muscle in dog: light and electron microscopy of resting muscle*. *American journal of veterinary research* 1973; 34:507-514.
- ¹⁵⁶ Latorre R., Gil F., Vazquez J.M., Moreno F., Mascarello F., Ramirez G., *Skeletal muscle fibre types in the dog*. *Journal of Anatomy* 1993; 182:329-337.
- ¹⁵⁷ Smerdu V., Strbenc M., Meznaric-Petrusa M., Fazarinc G., *Identification of myosin heavy chain I, IIa and IIx in skeletal muscles of dog by an electrophoretic and immunoblotting study*. *Cells, tissues, organs* 2005; 180:106-116.
- ¹⁵⁸ Strbenc M., Smerdu V., Zupanc M., Tozon N., Farazinc G., *Pattern of myosin heavy chain isoforms in different fibre types of canine trunk and limb skeletal muscles*. *Cells, tissues, organs* 2004; 208:178-186.
- ¹⁵⁹ Acevedo L.M., Rivero J.L.L., *New insights into skeletal muscle fibre types in the dog with particular focus towards hybrid myosin phenotypes*. *Cell and tissue research* 2006; 323:283-303.
- ¹⁶⁰ Toniolo L., Maccatrozzo L., Patruno M., Pavan E., Caliaro F., Rossi R., Rinaldi C., Canepari C., Reggiani C., Mascarello F., *Fiber types in canine muscles: myosin isoform expression and functional characterization*. *American journal of*

physiology. *Cell physiology* 2007; 292(5):C1915-26.

- ¹⁶¹ Smerdu V., Karsh-Mizrachi I., Campione M., Leinwadn L., Schiaffino S., *Type IIX myosin heavy chain transcripts are expressed in type IIB fibers of human skeletal muscle*. *The American journal of physiology* 1994; 267:C1723-C1728.
- ¹⁶² Talmadge R.J., Grossman E.J., Roy R.R., *Myosin heavy chain composition of adult feline (Felis catus) limb and diaphragm muscles*. *The Journal of experimental zoology* 1996b; 275:413-420.
- ¹⁶³ Tanabe R., Muroya S., Chikuni K., *Sequencing of the 2a, 2x and slow isoform of the bovine myosin heavy chain and the different expression among muscles*. *Mammalian genome* 1998; 9:1056-1058.
- ¹⁶⁴ Argüello A., Lopez-Fernández J.L., Rivero J.L.L., *Limb myosin heavy chain isoproteins and muscle fiber types in the adult goat (Capra hircus)*. *The Anatomical record* 2001; 264:184-293.
- ¹⁶⁵ Eizema K., Burg M. van den, Kiri A., Dingboom E.G., Oudhheusden H. van, Goldspink G., Wejs W.A., *Differenzial expression of equine myosin heavy-chain mRNA and protein isoforms in a limb muscle*. *The journal of histochemistry and cytochemistry* 2003; 51:1207-1216.
- ¹⁶⁶ Preziuso F., Preziuso S., *Analisi di parametri ematici significativi nel controllo e nella valutazione dell'allenamento sportivo nel cane e in altre specie animali di riferimento*. *Annali Facoltà Medicina Veterinaria-Pisa*, 2002; 55(1):171-184.
- ¹⁶⁷ Richmann H., Pette D. *A comparative microphotometric study of succinate dehydrogenase activity levels in type I, IIA and IIB fibres of mammalian and human muscles*. *Histochemistry* 1982; 74:27-41.
- ¹⁶⁸ Snow D.H., Billeter R., Mascarello F., Carpena E., Rowlerson A., Jenny E., *No classical IIB fibres in dog skeletal muscle*. *Histochemistry* 1982; 75:53-65.
- ¹⁶⁹ Rivero J.L.L., Diz A., Toledo M., Agüera E., *Enzyme-histochemical profiles of fiber types in mature canine appendicular muscles*. *Anatomia, histologia, embryologia* 1994; 23:330-336.
- ¹⁷⁰ Richter E.A., Kienes B., Saltin B., Christensen N.J., Savard G., *Skeletal muscles glucose uptake during dynamic exercise in humans: role of muscle mass*. *The American journal of physiology* 1988; 254:E555-E561.
- ¹⁷¹ Karlsson J., Diamant B., Saltin B., *Muscles metabolites during submaximal and maximal exercise in man*. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 1971; 39:179-183
- ¹⁷² Stainsby W.N., Books G.A., *Control of lactic acid metabolism in contracting muscles and during exercise*. *Exercise and sport sciences reviews* 1990; 18:29-63
- ¹⁷³ Matwichuk C.L., Taylor S.M., Shmon C.L., Kass P.H., Shelton D., *Changes in*

rectal temperature and hematologic, biochemical, blood gas, and acid-base values in healthy Labrador Retrievers before and after strenuous exercise. American journal of veterinary research 1999; 60:88-92.

- ¹⁷⁴ Preziuso F., Prezioso S., *Lattato e cortisolo nell'esercizio muscolare e nell'allenamento sportivo. Valutazione specifica e rapporti nel setter inglese, nello spinone, nel pastore tedesco e nel levriero. Annali della Facoltà di Medicina veterinaria di Pisa 2001; 54:349-360*
- ¹⁷⁵ Cardinet III G.H., *Skeletal muscle fuction. In: Kaneko J.J., Havrey J.W., Bruss M.L., (Eds) Clinical biochemistry of domestic animal. 5ed New York : Academic 1997; 407-440.*
- ¹⁷⁶ Massari F.M., *Sindrome Coronarica Acuta, un nuovo modo di fare diagnosi, un nuovo modo di impostare la terapia. Springer ,Milano 2004.*
- ¹⁷⁷ Aktas M, Auguste D., Lefebvre H.P., Toutain P.L., Braun J.P., *Creatine kinase in the dog: a revirew. Veterinarian Research Communications 1993; 17:353-369.*
- ¹⁷⁸ Parent J., *Disturbi neurologici. In: Willard D.M., Tvedten H., Diagnostica di laboratorio nei piccoli animali. Elsevier Milano 2005; 316-325.*
- ¹⁷⁹ Montes A.M., Gutiérrez-Panizo C., Garcia-Partida P., Prieto F., *CK-MB, LDH y AST en perros de distintas edades con infarto de miocardio. Annales Veterinaria Mursia 1987; 2:101-108.*
- ¹⁸⁰ Lindena J., Trautschold I., *Enzyme in lymph: a review. Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry 1983; 21:327-346.*
- ¹⁸¹ Carlson C.J., Meister W., Emilson B., Sheiner L.B., Rapaport E., *Clarence of serum creatine kinase activity. Cardiovascular Research 1982; 16:66-70.*
- ¹⁸² Rose R.J., Bloomberg M.S., *Responses to sprint exercise in the greyhound effects on haematology, serum biochemistry and muscle metabolites. Research in Veterinary Science 1989; 47(2):212-8.*
- ¹⁸³ Ilkiw J.E., Davis P.E., Church D.B., *Hematologic, biochemical, blood-gas and acid-base values in Greyhound before and after exercise. American journal of veterinary research 1989; 50(4):583-586.*
- ¹⁸⁴ Beaunoyer D.E., *Changes in serum enzyme activities after maximal exercise in camels. Proceedinngs of the First Internetalional Camel Conf., Dubai 1992; 331-333.*
- ¹⁸⁵ Art T., Franchimont P., Lekeux P., *Plasma beta-endorphin response of thoroughbred horses to maximal exercise. The Veterinary record 1994; 135(21):499-503.*
- ¹⁸⁶ Hinchcliff K.W., Constable P.D., Farris J.W., Schmidt K.E., Hamlin R.L., *Electrocardiographic characteristics of endurance-trained Alaskan sled dogs.*

- ¹⁸⁷ Ferrante V. *Benessere Animale*. In: Albertini M., Canali E., Cannas S., Ferrante V., Mattiello S., Panzera M., Verga M., *Etologia applicata e Benessere animale*, Milano-Point Veterinarie Italie 2008; 1:29-47.
- ¹⁸⁸ Beerda B., Schilder M.B.H., van Hooff J.A.R.A.M., de Vries H.W., *Manifestations of chronic and acute stress in dog*. Applied Animal Behaviour Science 1997; 52:307-319.
- ¹⁸⁹ Solomon R.L., Wynne L.C., *Traumatic avoidance learning: acquisition in normal dog*. Genetic psychology monographs 1955; 52(2):241-84.
- ¹⁹⁰ Schilder M.B.H., van der Borg J.A.M., *Training dogs with help of the shock collar: short and long term behavioural effects*. Applied Animal Behaviour Science 2004; (85):319-334.
- ¹⁹¹ Corson S.A., *Pavlovian and operant conditioning techniques in the study of psychosocial and biological relationships*. Society, Stress Disease 1971; 1:7-21
- ¹⁹² Engeland W.C., Miller P., Gann D.S., *Pituitary-adrenal adrenomedullary responses to noise in awake dogs*. The American journal of physiology 1990; 258:R672-R677.
- ¹⁹³ Corson S.A., Corson O.E., *Constitutional differences in physiologic adaptation to stress and distress*. In: Psychopathology of Human Adaptation, Plenum Press. New York 1976; 7-21.
- ¹⁹⁴ Cannon W.B., *Bodily Changes in Pain, Hunger, Fear, and Rage*. Appleton, New York 1929.
- ¹⁹⁵ Engel G.L., Schmale A.H., *Conservation-withdrawal: a primary regulatory process for organismic homeostasis*. Ciba Foundation symposium 1972; 8:57-75.
- ¹⁹⁶ Cocco R., Visco S., *Collare elettrico. Tra maltrattamento ed ignoranza*. Aracne, Roma 2007.
- ¹⁹⁷ Schwizgebel D., *Zusammenhänge zwischen dem Verhalten Tierlehrers und dem Verhalten des Deutschen Schäferhundes im Hinblick auf tiergerechte Ausbildung. Aktuelle Arbeiten zur artgemassen Tierhaltung*. 1982, pp. 138-148.
- ¹⁹⁸ Abrantes R., *Il linguaggio del cane*. Editore Olimpia 2008.
- ¹⁹⁹ Hubrecht R.S., Serpell J.A., Poole T.B., *Correlates of pen size and housing conditions on the behaviour of kennelled dogs*. Applied animal behaviour science 1992; 34:365-383.
- ²⁰⁰ Hetts S., Clark J.D., Calpin J.P., Arnold C.E., Mateo J.M., *Influence of housing condition on beagle behaviour*. Applied animal behaviour science 1992; 34:137-

- ²⁰¹ Lawrence A.B., Ruschen J., *Stereotypic Animal Behaviour: Fundamentals and Application to welfare*. CAB International, Wallingford 1993.
- ²⁰² Beerda B., Schilder M.B.H., van Hooff J.A.R.A.M., de Vries H.W., Mol J.A., Behavioural, saliva cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 1998; 58:365-381.
- ²⁰³ Assia E., Epstein Y., Magazanik A., Shapiro Y., Sohar E., *Plasma cortisol levels in experimental heatstroke in dogs*. *International journal of biometeorology* 1989; 33:85-88.
- ²⁰⁴ Bueno L., Gue M., Fargeas M.J., Alvinerie M., Junien J.L., Fioramonti J., *Vagally mediated inhibition of acoustic stress-induced cortisol release by orally administered k-opioid substances in dogs*. *Endocrinology* 1989; 124(2):1788-1793.
- ²⁰⁵ Dess N.K., Linwick D., Patterson J., Overmier J.B., *Immediate and proactive effects of controllability and predictability on plasma cortisol responses to shock in dogs*. *Behavioral neuroscience* 1983; 97(6):1005-1016.
- ²⁰⁶ Rothuizen J., Reul J.M.H.M., van Sluijs F.J., Mol J.A., Rijnberk A., de Kloet E.R., *Increased neuroendocrine reactivity and decreased brain mineralcorticoid receptor-binding capacity in aged dogs*. *Endocrinology* 1993; 132(1):161-168.
- ²⁰⁷ Rugaas T., *L'intesa con il cane: I Segnali Calmanti*. Haquihana Ed., Cormano (MI), 2007.
- ²⁰⁸ Beerda B., Schilder M.B.H., van Hooff J.A.R.A.M., de Vries H.W., Mol J.A., *Chronic Stress in Dog Subjected to Social and Spatial Restriction. I. Behavioral Responses*. *Physiology and Behavior* 1999; 66(2):233-242.
- ²⁰⁹ Tuber D.S., Sanders S., Hennessy M.B., Miller J.A., *Behavioral and glucocorticoid responses of adult domestic dog (Canis familiaris) to companionship and social separation*. *Journal of Comparative Psychology* 1996; 110:103-108.
- ²¹⁰ Clark J.D., Rager D.R., Crowell-Davis S., Evans D.L., *Housing and exercise of dogs: effects on behaviour, immune function, and cortisol concentration*. *Laboratory Animal Sciences* 1997; 47(5):500-510.
- ²¹¹ Elliot O., Scott J.P., *The development of emotional distress reactions to separation in puppies*. *Journal of Genetic Psychology* 1961; 99:3-22.
- ²¹² Federicson E., *Percentual homeostasis and distress vocalization in puppies*. *Journal of Personality* 1952; 20:472-477.
- ²¹³ Chapman B.L., Voith V.L., *Behavioral problems in old dogs: 26 cases (1984-1987)*. *Journal of the American Veterinary Medicine Association* 1990; 196:944-946.

-
- ²¹⁴ Scott J.P., Bielfelt S.W., *Effects of experience in 4-H foster homes*. In: C.J. Pfaffenberger, J.P. Scott, J.L. Fuller, B.E. Ginsburg, S.W. Bielfelt (Eds.) *Guide dogs for the blind: Their selection development, and training* (pp.101-126). Amsterdam 1976. Elsevier.
- ²¹⁵ Tuber D.S., Hothersall D., Peters M.F., *Treatment of fears and phobias in dogs*. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 1982; 12:607-623.
- ²¹⁶ Voith V.L., Borchelt P.L., *Separation anxiety in dogs*. *Compendium on Continuing Education for Veterinary Practice* 1985; 7:44-52.
- ²¹⁷ Mason G., Mendl M., *Why is there no simple way of measuring animal welfare*. *Animal Welfare* 1993; 2:301-319.
- ²¹⁸ Mattiello S., Panzera M., *Metodologia di studio del comportamento animale*. In: Albertini M., Canali E., Cannas S., Ferrante V., Mattiello S., Panzera M., Verga M., *Etologia applicata e Benessere animale, Milano-Point Veterinarie Italie* 2008; 1:7-19.
- ²¹⁹ Cocco R., Bonelli P., Visco S., Tosciri G., Zobba R., Fresi S., Canalis M., Nicolussi P., *Cani coterapeuti: valutazione dello stress attraverso la misurazione della cortisolemia e della frequenza cardiaca*. IX Congresso nazionale S.I.Di.L.V., Roma 14-16 novembre 2007.
- ²²⁰ Vessier I., Boissy A., *Stress and welfare: Two complementary concepts that are intrinsically related to the animal's point of view*. *Physiology & Behavior* 2007; 92:429-433.
- ²²¹ Hastings A.B., White F.C., Sanders M., Bloor M., *Comparative physiological Responses to exercise stress*. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology* 1982; 52(4):1077-1083.
- ²²² Schole J., Sallmann H.P., Brass W., Kersten U., Schütt I., Delbrück A., Trautwein G., Messow C., Amtsberg G., Kirchhoff H., Döhler K.D., Rapp K.G., *Experimentelle Untersuchungen zum Bindegewebstoffwechsel des Hundes bei unterschiedlichen Haltungs und Fütterungs-Bedingungen unter besonderer Berücksichtigung der Endokardiose*. *Zentralblatt für Veterinar Medizin* 1982; 29:253-270
- ²²³ Sneddon J.C., Minnaar P.P., Grosskopf J.F.W, Groeneveld H.T., *Physiological and blood biochemical responses to submaximal treadmill exercise in Canaan dog before, during and after training*. *Journal of the South African Veterinary Association* 1989; 60:87-91.
- ²²⁴ Grandjean F., Vallette J.P., Jouglin M., Gabbillard C., Bacque H., Bene M., Guillaud J.P., *Interet d'une supplementation nutritionnelle en L-carnitine, vitamine C et vitamine B₁ chez le chien de sport. Etude experimentale conduite chez le chien de traineau en situation*. *Rec.Med.Veter* 1993; 169(7):543- 551.

-
- ²²⁵ Preziuso F., Preziuso S., *Effetti biologici dell'integrazione alimentare con l-carnitina nell'allenamento sportivo del cane da caccia. Nota II.* Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria di Pisa 2000; 53:205-214.
- ²²⁶ Preziuso F., Preziuso S., *Effetti biologici dell'integrazione alimentare con l-carnitina nell'allenamento sportivo del cane di razza pastore tedesco ed analisi differenziale degli effetti riguardo il setter inglese. Nota III.* Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria di Pisa 2001; 54:159-169.
- ²²⁷ Koyama T., Omata Y., Saito A., *Changes in Salivary Cortisol Concentration During a 24-Hour Period in Dogs.* Hormone and metabolic research 2003; 35:355-357.
- ²²⁸ Jonston S.D., Mather E.C., *Canine plasma cortisol (hydrocortisone) measured by radioimmunoassay: clinical absence of diurnal variation and results of ACTH stimulation and dexamethasone suppression tests.* American journal of veterinary research 1978; 39:1766-1770.
- ²²⁹ Thun R., Eggenberger E., Zerobin K., *24-hour profiles of plasma cortisol and testosterone in the male dog: absence of circadian rhythmicity, season, influence and hormonal interrelationships.* Reproduction in domestic animals 1990; 25:68-77.
- ²³⁰ Beerda B., Schilder M.B.H., Janssen N.S.C.R.M., Mol J.A., *The use of Saliva Cortisol, Urinary Cortisol, and Catecholamine Measurements for Noninvasive Assessment of Stress Responses in Dog.* Hormones and Behaviour 1996; 30:272-279.
- ²³¹ Schatz S., Palme R., *Measurement of Faecal Cortisol Metabolites in Cats and Dogs: A Non-invasive Method for Evaluating Adrenocortical Function.* Veterinary Research Communications 2001; 25:271-287.
- ²³² Accorsi P.A. Carloni E., Valsecchi P., Viggiani R., Gamberoni M., Tamanini C., Seren E., *Cortisol determination in hair and faces from domestic cats and dogs.* General and Comparative Endocrinology 2008; 155:398-402.
- ²³³ Pfister H.P., *The glucocorticosterone response to novelty as a psychological stressor.* Physiology and Behaviour 1979; 23:649-652.
- ²³⁴ Dantzer R., Mormède P., *Stress in domestic animals: a psycho-neuroendocrine approach.* In Moberg G. P. (ed.) Animal Stress pp 81-95. American Physiological Society: Bethesda 1985.
- ²³⁵ McCune S., *Temperament and Welfare of Caged Cats.* PhD thesis, University of Cambridge 1992.
- ²³⁶ Talken C.E. *The use of beagle in high intensity noise studies.* Laboratory animal science 1971; 21:700-704.
- ²³⁷ Francis D., Meaney M.J., *Maternal care and the development of stress responses.* Current Opinion in Neurobiology 1999; 9(1):128-134.
- ²³⁸ Wiepkema P.R., *Behavioural aspects of stress.* In Adrichem P.W.M. van, Wiepkema

P.R. (eds) *The Biology of Stress in Farm Animals: An Integrated Approach* pp 113-134. Martinus Nijhoff: Dordrecht 1987.

²³⁹ Weiss J.M., *Effects of coping behaviour in different warning signal condition on stress pathology in rats*. *Journal of Comparative Physiology and Psychology* 1971; 77:1-13

²⁴⁰ Dawkins M.S., *Animal suffering, the science of animal welfare*. London 1980: Chapman and Hall Ltd.

²⁴¹ Duncan I.J.H., *Welfare is to do with what animals feel*. *Journal of agricultural & environmental ethics* 1993; 6:8-14.

APPENDICE:

SCHEDA SEDUTA PET-THERAPY

Data : _____ Ora inizio : _____ Luogo : *Palestra* *All'Aperto* *Sassari*
 Ora fine : _____ Altro: _____
 Paziente : _____ Cane/Conduuttore : _____ Medico: _____ Veterinario: _____

n° Seduta : _____
 Altre Persone presenti alla seduta: _____ (Video), _____, _____, _____,
 _____, _____, _____, _____,

Condizioni Atmosferiche: Caldo Freddo Mite Nuvoloso Pioggia Sole Sera
 Durata seduta (min) : _____

ATTIVITA SVOLTA	DURATA (min)
1)	
2)	
3)	
4)	
5)	
6)	
7)	
8)	
9)	
10)	
11)	
12)	
13)	
14)	

A) Interruzioni Terapia:

Quante volte	Per Quanto/(quando)	Perchè

Accucciarsi			
Movimenti veloci della testa			
Scuotimento della testa /o del corpo			
Evitare/sfuggire			
Odorare per terra			
Abbaiare/Ringhiare			
Vocalizzazioni di diversa intensità e timbro			
Leccarsi le labbra			
Orripilazione del pelo			
Leccarsi le zampe			

C) Comportamento del Partner :

- E' puntuale si no più si che no più no che si
- Adeguato si no più si che no più no che si
- Dominante si no più si che no più no che si
- Rispetta le regole si no più si che no più no che si
- Rispetta il turno si no più si che no più no che si
- Tono di voce alto si no più si che no più no che si
- Premia il cane adeguatamente si no più si che no più no che si

Altro: _____

C) Rinforzo : SI NO Quale: Crochette Prosciutto Cotto Wurstel
 Altro: _____

E) Valutazione globale della seduta (partecipazione, collaborazione, risultati):

- Scarsa - Buona
- Sufficiente - Ottima

EVENTUALI COMMENTI:

Firma Operatore:

Prima di tutto vorrei ringraziare la mia piccola Shila, Boris, Oscar, Apollo, Zenia, Galana, Kira, Simba, Molly, Chia, Burt, Lilli, Aker, Belle, Jingle e Duma per la collaborazione e la pazienza dimostrate durante lo studio; Emanuela, Gianni e tutti i ragazzi che hanno lavorato nelle sedute di Pet Therapy con passione ed entusiasmo; Rosanna, la Dott. ssa Poddighe, la Dott. ssa Nicolussi e i suoi collaboratori, tra questi in particolare Rossana, per il preziosissimo contributo; Rossana Rigoldi per la grande disponibilità; i professori Pintori, Coda e Cubeddu per avermi dato in questi tre anni l'opportunità di crescere professionalmente; i colleghi di clinica chirurgica e anatomia patologica che hanno contribuito ad aumentare le mie esperienze cliniche; Maria Luisa che nei momenti di difficoltà mi ha saputo consigliare; Nicoletta, Sara, Gabriele e Filippo perché più che colleghi sono stati dei compagni di "viaggio"; Raffaella perché ha rappresentato "una base sicura" e ha arricchito le mie conoscenze ; Claudia perché mi è sempre stata vicina.

A mia Madre