

VALUTAZIONE DELLA CORTISOLEMIA IN CANI OSPITATI IN CANILE SANITARIO

EVALUATION OF CORTISOLEMIA IN DOGS HOUSED IN A SHELTER

ANGELO GAZZANO ⁽¹⁾, CHIARA MARITI ⁽¹⁾, MAURIZIO HIMMELMANN ⁽²⁾,
LUCA CALDERISI ⁽²⁾, ALBERTO NICCOLINI ⁽¹⁾, GIANFRANCO RUGGERI ⁽³⁾,
GRAZIA GUIDI ⁽⁴⁾, MICHELE DUCCI ⁽¹⁾, FRANCO MARTELLI ⁽¹⁾, CLAUDIO SIGHIERI ⁽¹⁾

RIASSUNTO

La valutazione del benessere dei cani ospitati in canile è un argomento di estrema attualità e di difficile soluzione. Tra gli approcci tentati, quello fisiologico (comprendente la valutazione del comportamento e la determinazione della cortisolemia), risulta essere uno dei più attendibili. Scopo della presente ricerca è stato quello di valutare l'effetto sul cane della permanenza in canile, determinando i livelli ematici di cortisolo dal momento dell'arrivo nella struttura fino al termine del soggiorno (2 mesi), eseguendo prelievi ematici con cadenza settimanale. Per la sperimentazione sono stati utilizzati 15 cani meticci di entrambi i sessi, ospitati presso il canile sanitario dell'ASL 2 di Lucca. L'analisi statistica dei dati ha dimostrato una significativa ($p < 0,05$) riduzione dei livelli di cortisolo plasmatico che, dai valori iniziali di $191,75 \pm 151,38$ ng/ml, sono scesi a $118,41 \pm 25,79$ ng/ml, pur rimanendo al di sopra del range considerato fisiologico per il cane (10-40 ng/ml). Nessuna variazione statisticamente significativa è stata riscontrata per quanto riguarda la concentrazione dei globuli rossi, dei globuli bianchi, delle piastrine, dell'emoglobina e l'ematocrito.

Questi primi risultati permettono di sottolineare l'importanza del dosaggio del cortisolo plasmatico per monitorare lo stato di benessere del cane ospitato in canile che può risultare compromesso dalla permanenza in un ambiente particolarmente povero di stimoli sociali.

Parole chiave: cane, canile, stress, cortisolo plasmatico.

SUMMARY

Animal shelters are situations where living conditions may be austere and stressful for dog. The assessment of welfare problems in dogs requires a tool that measures poor welfare in this species. The aim of this study has been to evaluate (weekly for 5 weeks) cortisol levels in blood of dogs housed in a public shelter, since the day of arrival. Statistical analysis has shown a significant ($p < 0.05$) reduction of cortisol levels from initial values (191.75 ± 151.38 ng/ml) until 118.41 ± 25.79 ng/ml. Nevertheless both values were higher than physiological parameters (10-40 ng/ml).

⁽¹⁾ Dipartimento di Anatomia, Biochimica e Fisiologia Veterinaria, Direttore Prof. Carlo Benvenuti.

⁽²⁾ Collaboratore Esterno.

⁽³⁾ Veterinario dirigente A.S.L. 2 di Lucca.

⁽⁴⁾ Dipartimento di Clinica Veterinaria, Direttore Prof. Fabio Carlucci.

Our results seem to indicate that cortisol determination in blood could be an useful instrument to monitor chronic stress in dog during its stay in a shelter.

Key words: dog, shelter, stress, plasmatic cortisol.

INTRODUZIONE

Il benessere del cane ospitato in canile sanitario è uno degli argomenti di maggior attualità nel nostro Paese, dove leggi nazionali e regionali vietano la soppressione degli animali randagi e prevedono la loro sistemazione in canili rifugio qualora, dopo un periodo di osservazione di 60 giorni in un canile sanitario, non sia stato possibile trovare un'adozione.

La permanenza nel canile sanitario può costituire un evento particolarmente stressante per il cane, che vi giunge spesso dopo essere stato abbandonato ed aver vagato senza cibo in un ambiente estraneo e ricco di stimoli inconsueti. A questa prima esperienza stressante segue la cattura, che può avvenire in modo più o meno traumatico. Il cane inizia quindi la sua permanenza in canile, in un ambiente che, per quanto rispondente alle norme previste dalle diverse legislazioni nazionali e locali, è senz'altro fonte di possibile stress sia per le mutate condizioni ambientali sia per il profondo cambiamento che subisce la relazione con l'essere umano.

Al di là del mutamento di dieta, del confinamento in uno spazio chiuso e della perdita della routine quotidiana, è forse il cambiamento nella qualità e frequenza della relazione con l'uomo l'elemento che incide in modo sostanziale sul benessere dell'animale. Per il cane, animale collaborativo per eccellenza, la perdita del rapporto con l'essere umano di riferimento costituisce un serio motivo di sofferenza.

La valutazione del benessere animale è uno dei campi di ricerca in cui si sta concentrando l'interesse dei ricercatori, sulla spinta anche dell'opinione pubblica, che chiede sempre più insistentemente che gli animali siano mantenuti in condizioni rispettanti non solo le loro esigenze fisiologiche ma anche e soprattutto che sia permesso loro di esibire il normale repertorio comportamentale. Tra i vari indici di stress utilizzati per valutare il benessere dell'animale, oltre alla determinazione dei cambiamenti e delle anomalie presenti nel comportamento ed alla variazione degli indici produttivi (questi ultimi utilizzati soprattutto negli animali in produzione zootecnica), una grande importanza rivestono gli indici fisiologici, ovverosia la misurazione di quelli indicatori umorali dello stress che ne permettono un rilevamento rapido ed accurato. L'asse ipotalamo-ipofisi-surrene è considerato come il sistema endocrino di prima risposta allo stress. La sua attivazione culmina nell'aumento della secrezione di ormoni glicocorticoidi, tra cui soprattutto il cortisolo, nel torrente circolatorio. Sebbene una moltitudine di eventi stressanti possa attivare l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, gli stress psicologici risultano essere più efficaci di quelli indotti da danni fisici (Mason, 1975). Tra gli eventi traumatici di natura psichica sono stati segnalati: l'esposizione ad ambienti nuovi (Friedman & Ader, 1967; Friedman et al., 1967), la separazione da oggetti fonte di attaccamento (Mendoza & Mason,

1986; Hennessy, 1997) e l'imprevedibilità degli eventi esterni (Muir & Pfister, 1986). È inoltre importante sottolineare come la prolungata e/o ripetuta esposizione ad elevati livelli degli ormoni secreti dall'asse ipotalamo-ipofisi-surrene possa spesso comportare pericolose conseguenze quali varie forme di patologie psichiatriche (ad esempio disordini ansiosi) o vere e proprie malattie anche con ripercussioni cerebrali (Sapolsky, 1992; Schulkin et al., 1994; Sapse, 1997) ed è stato inoltre evidenziato come nel cane il trauma derivante dall'abbandono possa essere l'anticamera di alcuni problemi comportamentali (quali l'ansia da separazione) che spesso insorgono nei cani adottati dal canile (Voith & Borchelt 1985; Wells & Hepper, 1992).

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di determinare i livelli plasmatici di cortisolo nei cani ospitati in canile sanitario in modo da verificare l'esistenza di eventuali variazioni che possano indicare uno stato di stress durante il periodo di permanenza nella struttura.

MATERIALI E METODI

Per la presente ricerca sono stati utilizzati 15 cani (8 maschi e 7 femmine) randagi, meticci ed interi, di età compresa fra i 2 e gli 8 anni. Gli animali erano ospitati presso il canile sanitario di Pontetetto, nel comune di Lucca (ASL 2), in box divisi in una zona scoperta ed una coperta di eguale estensione (140 cm di lunghezza x 95 cm di larghezza). I cani sono stati sottoposti a visita clinica e comportamentale il terzo giorno seguente al loro ingresso in canile ed in quella occasione è stato effettuato un prelievo di sangue per la valutazione dei parametri ematochimici di base, al fine di escludere patologie in corso. Un'aliquota del campione di sangue prelevato è stata utilizzata per la determinazione delle concentrazioni ematiche del cortisolo e per la valutazione dell'emocromo. I prelievi ematici per il dosaggio di cortisolo e per l'esecuzione dell'emocromo sono stati ripetuti con cadenza settimanale nelle quattro settimane seguenti, avendo cura di ridurre al minimo possibili stress legati alla metodica di prelievo. L'animale era trattenuto con delicatezza da un operatore ed il prelievo era effettuato entro 4 minuti dall'uscita del cane dal box. Il rispetto di questi tempi di prelievo infatti non altera in modo significativo i livelli del cortisolo ematico (Davidson, 1968).

Per la determinazione del cortisolo, il sangue prelevato è stato addizionato con EDTA e centrifugato per 5 minuti a 1000 gpm ed il plasma è stato stoccato in azoto liquido in attesa delle analisi.

La determinazione del cortisolo plasmatico è stata effettuata utilizzando una metodica ELISA con kit validato per il cortisolo canino (Dia-Metra S.r.l. Foligno, PG).

L'esame emocromo citometrico comprendeva la determinazione della concentrazione di globuli rossi, bianchi e piastrine, dell'emoglobina, il valore ematocrito.

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad elaborazione statistica utilizzando il test della regressione lineare di Pearson.

RISULTATI

In Tab. I sono riportati i valori relativi alla cortisolemia dei diversi soggetti durante le 5 settimane di osservazione. Tutti i cani, ad eccezione del soggetto n° 1, presentano una concentrazione di cortisolo molto elevata rispetto ai valori fisiologici di riferimento (10-40 ng/ml). Le concentrazioni tendono a diminuire con il passare delle settimane, pur restando comunque a valori maggiori di 40 ng/ml.

Nella Fig. 1 sono riportati i valori medi relativi alle concentrazioni plasmatiche del cortisolo nei cani durante le 5 settimane di permanenza in canile. È rilevabile una diminuzione statisticamente significativa ($p < 0,05$) della concentrazione di cortisolo con il passare del tempo.

Nelle Fig. 2 e 3 sono riportati i valori medi dei parametri ematologici esaminati. I dati appaiono nel complesso uniformi ed un'unica variazione, peraltro non significativa, è rilevabile a carico della concentrazione leucocitaria, che passa da 10.754 leucociti/ μ l alla seconda settimana a 12.327 alla terza settimana.

Tab. I. Concentrazioni plasmatiche del cortisolo (ng/ml) nei cani in canile. *Plasmatic concentrations of cortisol (ng/ml) in dogs in a shelter.*

CANE\SETT. DOG\WEEK	1	2	3	4	5
1	31	26,8	NA	40	40
2	74,1	106,6	NA	107,6	NA
3	98,6	81,1	41,8	68,1	89,6
4	81,1	65,6	53,8	52	56,3
5	559,2	328,9	244,8	262,7	NA
6	NA	62	45	57	NA
7	136,1	87,6	111,6	114,6	87,6
8	68,1	64,1	65,1	70,6	57,8
9	98,6	100,6	129,1	69,1	NA
10	328,8	274,4	253,5	NA	NA
11	NA	252,1	137,1	NA	NA
12	348,5	197,1	243,1	64,1	NA
13	111,6	107,6	103,6	65,6	57
14	178,1	218,1	143,1	82,1	107,6
15	100,6	100,6	262,3	92,6	119,1
MEDIA AVERAGE	191,75	149,21	141,07	104,71	118,41
± D.S.	151,38	92,34	83,37	59,65	25,79

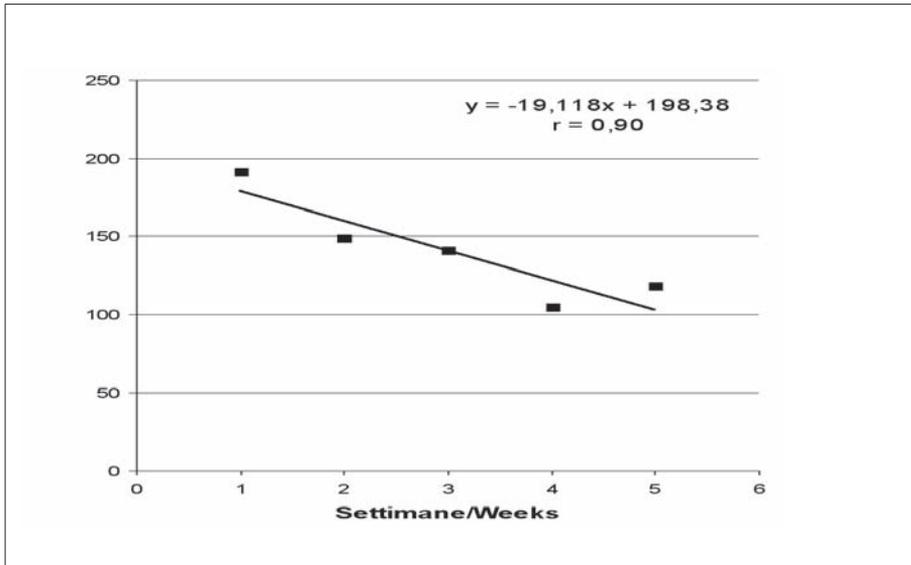


Fig. 1. Andamento della concentrazione plasmatica media del cortisolo nei cani durante la permanenza in canile (n=14). *Trend of the plasmatic average concentration of cortisol in dogs staying in shelter (n=14).*

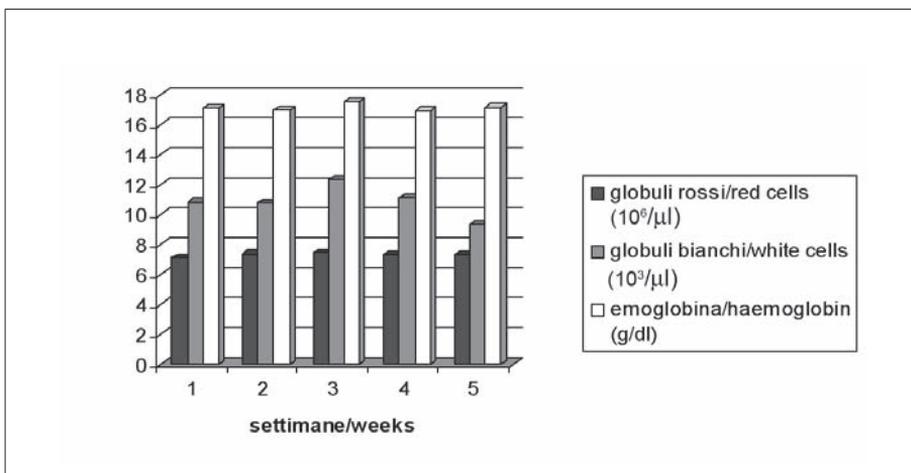
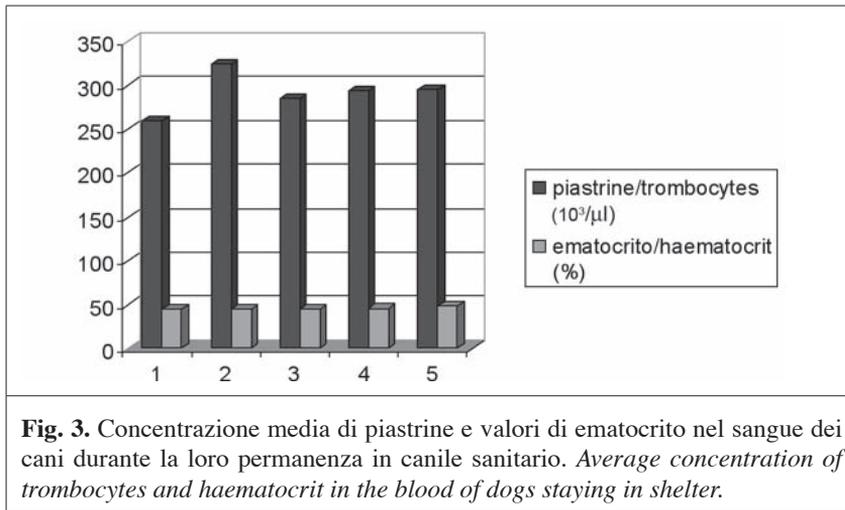


Fig. 2. Concentrazioni medie dei globuli rossi, dei globuli bianchi e dell'emoglobina nel sangue dei cani durante la loro permanenza in canile sanitario. *Average concentrations of red cells, white cells and haemoglobin in blood of dogs staying in shelter.*



DISCUSSIONE

Un cane confinato in un canile sperimenta un insieme di situazioni particolarmente stressanti che includono non solo la segregazione sociale e l'esposizione ad un nuovo ambiente ma anche il rumore, il confinamento in un ambiente ristretto, l'alterazione del ciclo luce-buio, la perdita delle abitudini familiari ed in generale l'impossibilità di poter in qualche modo controllare e prevenire gli avvenimenti che avvengono nell'ambiente in cui vive. Non è quindi strano rinvenire elevati livelli di cortisolo ematico in questi animali, soprattutto nei primi giorni di permanenza nel canile. Risultati simili furono trovati da Hennessy e coll. (Hennessy et al., 1997) in uno studio condotto sui cani ospitati in un canile sanitario, che mostrarono livelli di cortisolemia elevati nei primi tre giorni seguenti la cattura per poi rientrare rapidamente nel range fisiologico. I nostri dati mostrano invece una notevole attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene negli animali oggetto della sperimentazione, con livelli di cortisolo ematico notevolmente al di sopra dei valori fisiologici; questi ultimi inoltre non vengono raggiunti nell'arco delle 5 settimane di osservazione, seppur sia presente una significativa riduzione della cortisolemia. Potendo escludere l'effetto stressogeno del prelievo quale causa di tale elevata cortisolemia, i risultati di questa ricerca appaiono assai allarmanti, poiché indicano come la permanenza in canile costituisca per l'animale un evento particolarmente stressante. Negli ultimi anni inoltre una crescente serie di evidenze scientifiche ha dimostrato che un'attivazione prolungata dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene può essere causa di serie alterazioni comportamentali (Sapolsky, 1996; Schulkin et al., 1994). Per quanto riguarda gli esseri umani, è stata infatti avanzata l'ipotesi che eventi stressanti avvenuti in età precoce, come ad esempio l'abbandono da parte di figure di riferimento, possa sensibilizzare l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene ed i circuiti nervosi ad esso correlati cosicché l'individuo mostrerà

progressivamente tutti i segni dello stress in risposta a stimoli stressogeni di entità sempre minore. Questo potrebbe essere il meccanismo alla base di alcuni gravi casi di depressione (Gold et al., 1988). Non è quindi da escludere che cani provenienti da un'esperienza di vita in canile possano esibire tutta una serie di comportamenti disturbati. Lo stress proveniente dalla separazione dal proprietario e dall'esposizione ad un ambiente completamente nuovo potrebbe sensibilizzare il cane a tali esperienze ed incentivare l'attaccamento dell'animale alla persona adottante, così da favorire il fenomeno dell'iperattaccamento o addirittura un'ansia da separazione, rendendo difficile la gestione del cane nella routine quotidiana.

In conclusione, i risultati di questo studio permettono di affermare che durante il periodo di permanenza in canile sanitario il cane sperimenta uno stato di stress, dimostrato dagli elevati e permanenti livelli di cortisolo ematico. Le ripercussioni di tale stress sul benessere del cane e sul suo comportamento futuro richiedono un ulteriore studio per poter comprendere quale siano gli interventi che possono essere attuati per alleviare il disagio dell'animale e per verificare se, come è descritto nell'uomo, gli elevati livelli di cortisolo ematico possano portare ad alterazioni comportamentali conseguenti a processi di sensibilizzazione stress-indotti.

BIBLIOGRAFIA

- DAVIDSON J.M., JONES L., LEVINE S., (1968). Feedback regulation of adrenocorticotropin secretion in basal and stress conditions: acute and chronic effects of intrahypothalamic corticoid implantation. *Endocrinol.*, 82: 655-663.
- FRIEDMAN, S.B., ADER, R., (1967). Adrenocortical response to novelty and noxious stimulation. *Neuroendocrinol.*, 2: 209-212.
- FRIEDMAN, S.B., ADER, R., GROTA, L.J., LARSON, T., (1967). Plasma corticosterone response to parameters of electric shock stimulation in the rat. *Psychosom. Med.*, 29: 323-328.
- GOLD P.W., GOODWIN F.K., CHROUSOS G.P., (1988). Clinical and biochemical manifestations of depression: relation to the neuropathology of stress. Part I. *New Engl. J. Med.*, 319: 348-53.
- HENNESSY M.B., DAVIS H.N., WILLIAMS M.T., MELLOTT C., DOUGLAS C.W., (1997). Plasma cortisol levels of dogs at a county animal shelter. *Physiol. Behav.*, 62: 485-490.
- MASON J.W., (1975). A historical view of the stress field. Part II. *J. Hum. Stress*, 1: 22-36.
- MENDOZA S.P., MASON, W.A., (1986). Maternal division of labour and differentiation of attachments in a monogamous primate *Callicebus moloch*. *Anim. Behav.*, 34: 1336-1347.
- MUIR J.L., PFISTER, H.P., (1986). Corticosterone and prolactin responses to predictable and unpredictable novelty stress in rats. *Physiol. Behav.*, 37: 285-288.
- SAPOLSKY, R.M., (1992). *Stress, the Aging Brain, and the Mechanisms of Neuronal Death*. The MIT Press, London, UK.
- SAPOLSKY R.M., (1996). Why stress is bad for your brain. *Science*, 273: 749-50.
- SAPSE A.T., (1997). Cortisol, high cortisol diseases and anti-cortisol therapy. *Psychoneuroendocrinol.*, 22: S3-S10.
- SCHULKIN, J., MCEWEN, B.S., GOLD, P.W., (1994). Allostasis, amygdala, and anticipatory

angst. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 18: 385–396.

VOITH V.L., BORCHELT, P.L., (1985). Separation anxiety in dogs. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 7: 42–52.

WELLS D., HEPPEL, P.G., (1992). The behaviour of dogs in a rescue shelter. *Anim. Welfare*, 1: 171–186.