

# UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL CAMPUS REALEZA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE, BEM-ESTAR E PRODUÇÃO ANIMAL SUSTENTÁVEL NA FRONTEIRA SUL

# LARISSA DONAT ALMAGRO

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ESTRESSE NA PRODUÇÃO LACRIMAL DE GATOS HÍGIDOS

REALEZA

# LARISSA DONAT ALMAGRO

# AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ESTRESSE NA PRODUÇÃO LACRIMAL DE GATOS HÍGIDOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável da Universidade Federal da Fronteira Sul para a obtenção do título de mestre em Saúde, Diagnóstico e Bem-Estar Animal.

Orientador: Prof. Dr. Gentil Ferreira Gonçalves

**REALEZA** 

# Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Almagro, Larissa Donat AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ESTRESSE NA PRODUÇÃO LACRIMAL DE GATOS HÍGIDOS / Larissa Donat Almagro. -- 2022. 31 f.

Orientador: Doutor Gentil Ferreira Gonçalves

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável Na Fronteira Sul, Realeza, PR, 2022.

1. Teste Lacrimal de Schirmer. 2. Felinos. 3. Lágrima. 4. Estressores. I. Gonçalves, Gentil Ferreira, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

# LARISSA DONAT ALMAGRO

# AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ESTRESSE NA PRODUÇÃO LACRIMAL DE GATOS HÍGIDOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável da Universidade Federal da Fronteira Sul para a obtenção do título de mestre em Saúde, Diagnóstico e Bem-Estar Animal.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 05/12/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gentil Ferreira Gonçalves – UFFS Orientador

Prof. Dr. Denise Maria Sousa de Mello Avaliador

Notable Better Medini

Prof. Dr. Natalie Bertelis Merlini Avaliador

# **RESUMO**

O estresse é a resposta do organismo frente à um estímulo estressor que ameace sua homeostase. Uma série de respostas fisiológicas e comportamentais é deflagrada a partir da percepção da ameaça. Alguns autores sugerem que, na espécie felina, o estresse agudo reduz temporariamente a produção lacrimal. Sabe-se que a simples visita ao veterinário é capaz de induzir à ansiedade e estresse em gatos domésticos. Sendo assim, o teste lacrimal de Schirmer (TLS) apresenta pouca confiabilidade na espécie. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência que o estresse agudo pode exercer sobre a produção lacrimal, a fim de oferecer bases para a indicação de minimização dos estímulos estressores durante a avaliação oftálmica, estabelecendo assim a eficácia do TLS na avaliação quantitativa da lagrima. Foram selecionados 24 gatos hígidos, 12 machos e 12 fêmeas, sem raça definida, com idade de 8 meses a 6 anos, sem histórico de doenças oculares. Os animais ficaram hospedados durante 6 dias em boxes/gatis individuais, sob ambiente controlado. Os TLS I foram executados no período da manhã (entre 9h e 11h) e as fitas pertenciam ao mesmo lote. O primeiro teste (sem estímulo estressor), foi realizado no quinto dia da ambientação e o segundo teste (com estímulo estressor) no sexto dia. Para o estímulo estressor, foram utilizadas gravações de cães latindo, gatos brigando e burburinho de pessoas a 70dB. Para os dois testes, a frequência cardíaca foi avaliada com auxílio de um estetoscópio antes, durante e após a realização dos mesmos, bem como a avaliação do estresse ambiental. Foi observado que a mediana do TLS foi maior durante a intervenção por estresse em comparação ao período sem estresse (U= 173, p= 0,0166). O mesmo padrão de diferenças de medianas é visto para a frequência cardíaca (U= 105,5, p= <0.001) e escore ambiente (U= 5, p <0.001). Concluiu-se que o estresse seja capaz de aumentar a produção lacrimal em gatos. Apesar dos valores obtidos no TLS I durante a intervenção pelo estresse estejam dentro da normalidade, acredita-se que essa situação pode mascarar uma possível deficiência quantitativa do filme lacrimal. As manobras cat friendly facilitam a realização do exame, deixam os animais mais calmos contribuem para valores de TLS mais fidedignos.

Palavras-chave: Felinos, teste lacrimal de Schirmer, lágrima, estressores

# **ABSTRACT**

Stress is the body's response to a stressful stimulus that threatens its homeostasis. A series of physiological and behavioral responses are triggered from the perception of the threat. Some authors suggest that, in feline species, acute stress temporarily reduces tear production. It is known that a simple visit to the veterinarian is capable of inducing anxiety and stress in domestic cats. Therefore, the Schirmer tear test (STT) has little reliability in the species. The objective of this study was to verify the influence that acute stress can exert on tear production, in order to provide bases for the indication of minimization of stressful stimuli during ophthalmic evaluation, thus establishing the effectiveness of STT in the quantitative evaluation of tears. Twenty-four healthy cats, 12 males and 12 females, mixed breed, aged between 8 months and 6 years, with no history of eye diseases, were selected. The animals were housed for 6 days in individual boxes/catteries, under a controlled environment. The STT I were performed in the morning (between 9 am and 11 am) and the tapes belonged to the same batch. The first test (without stressor stimulus) was performed on the fifth day of s ambience and the second test (with stressor stimulus) on the sixth day. For the stressor stimulus, recordings of dogs barking, cats fighting and people's noise at 70dB were used. For the two tests, the heart rate was evaluated with the aid of a stethoscope before, during and after the performance of the same, as well as the evaluation of the environmental stress. It was observed that the median STT was higher during the stress intervention compared to the non-stress period (U= 173, p= 0.0166). The same pattern of median differences is seen for heart rate (U= 105.5, p= <0.001) and ambient score (U=5, p < 0.001). It was concluded that stress is capable of increasing tear production in cats. Although the values obtained in the STT I during the stress intervention are within normal limits, it is believed that this situation may mask a possible quantitative deficiency of the tear film. Cat friendly maneuvers facilitate the examination, make the animals calmer and contribute to more reliable STT values.

Keywords: Felines, Schirmer's tear test, tear, stressors

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

igura 1 – Gráfico de caixas para a variável teste lacrimal de Schirmer, com valores mediano
° e 3° quartil e limite inferior e superior1
igura 2 – Gráfico de caixas para a variável frequência cardíaca, com valores medianos, 1º e 3
uartil e limite inferior e superior1
igura 3 – Gráfico de caixas para a variável Escore ambiente, com valores medianos, 1º e 3
uartil e limite inferior e superior1
igura 4 - Gráfico de dispersão da não relação entre teste lacrimal de Schirmer e Escon
mbiente1

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valo	res obtidos o	das frequências	cardíacas,	escore de	estresse	ambienre	e teste
lacrimal de Schir	mer para cad	a animal nos dia	s sem estre	esse e com	estresse		16

# SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	GERAL	12
2.1	ESPECÍFICOS	12
3	MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1	ANIMAIS	13
3.2	AMBIENTAÇÃO	13
3.3	TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER I	13
3.4	ESCORE DE ESTRESSE AMBIENTAL	14
3.5	TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER I SEM ESTRESSE	14
3.6	TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER I COM ESTRESSE	14
3.7	CONDICIONAMENTO	15
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	15
4	RESULTADOS	16
5	DISCUSSÃO	19
6	CONCLUSÕES	21
7	REFERÊNCIAS	22
	ANEXO 1 – Termo de Consentimento Livre Esclarecido	26
	ANEXO 2 – Análise Comportamental	28
	ANEXO 3 – Escore de Estresse Ambiental	30

# 1. INTRODUÇÃO

O estresse pode ser definido como a condição ou estado onde a homeostase do organismo é ameaçada por estímulos estressores (KOOLHAAS et al., 2011; LEVINE, 2008). A percepção da ameaça deflagra uma série de respostas fisiológicas e comportamentais, mediadas por uma complexa estrutura neuroendócrina que tem como o objetivo a manutenção/restabelecimento da homeostase (CHROUSOS, 2009).

De acordo com a duração, o estresse pode ser classificado como agudo ou crônico (MOBERG, 2000). O estresse agudo, conhecido como a resposta de luta ou fuga, é a reação imediata e a curto prazo ao agente estressor. A persistência do estressor durante dias, semanas ou meses é denominada estresse crônico (DHABHAR, 2002; SAPOLSKY; ROMERO; MUNCK, 2000). Os estressores possuem efeitos aditivos, ou seja, quanto maior o número de estressores, maior a resposta resultante (AMAT; CAMPS; MANTECA, 2016).

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e o sistema nervoso autônomo (SNA) são os dois principais componentes da resposta ao estresse (DRAGOŞ; TĂNĂSESCU, 2010; MCEWEN, 2007). A ativação do SNA permite a resposta adaptativa rápida, ocorrendo em segundos, já o eixo HHA apresenta uma resposta mais lenta (WEBSTER MARKETON; GLASER, 2008).

Impulsos nervosos provenientes do estresse são transmitidos ao hipotálamo durante a ativação do eixo HHA. O hipotálamo secreta o hormônio liberador de corticotropina (CRH), que atinge a hipófise anterior, induzindo a secreção do hormônio corticotrófico (ACTH). O ACTH induz a secreção de glicocorticoides como o cortisol e a aldosterona pelo córtex da adrenal. Já a ativação do SNA resulta na secreção de acetilcolina, induzindo a liberação de epinefrina e norepinefrina pela medula da adrenal (LEFMAN; PRITTIE, 2019; WEBSTER MARKETON; GLASER, 2008).

O sistema nervoso simpático é conhecido como o sistema de luta ou fuga. Após a percepção do agente estressor, uma série de eventos fisiológicos é desencadeada a fim de mobilizar o organismo em resposta a uma emergência. Comumente é observado o aumento da frequência cardíaca e pressão arterial sistêmica, midríase, elevação do nível de glicose sanguínea e ácidos graxos livres, além de estado de excitação elevado (LEFMAN; PRITTIE, 2019).

A atividade simpática é regulada por um mecanismo de reação duplo, ou seja, o sistema parassimpático pode ajudar ou antagonizar a maioria das suas funções (TSIGOS et al., 2000). Inervando a maioria dos órgãos, os sistemas nervosos simpático e parassimpático atuam em sinergia na manutenção da homeostase do organismo (KLEIN, 2017).

O aparelho lacrimal dispõe de uma porção secretora, constituída pelas glândulas lacrimais, glândula da terceira pálpebra e glândulas acessórias, e outra excretora, composta pelo sistema de drenagem lacrimal (NÖLLER et al., 2006).

A lágrima ou filme lacrimal é um fluído que recobre a superfície da córnea. Tem como funções a manutenção da superfície ocular uniforme, remoção de corpos estranhos, lubrificação, nutrição e defesa imunológica. Possui três frações, sendo elas lipídica, aquosa e mucosa, que juntas proporcionam características quali/quantitativas à lagrima (RIBEIRO et al., 2008).

Compondo a primeira fração (externa) da lágrima, a camada lipídica é produzida pelas glândulas de tarsais e pelas glândulas sebáceas. A segunda fração (intermediária) é a aquosa, secretada pela glândula lacrimal (61%), pela glândula da terceira pálpebra (35%) e pelas glândulas acessórias (3%). A camada mucosa (interna) é produzida pelas células caliciformes da conjuntiva (SAMUELSON, 2013).

A glândula lacrimal principal, localizada próxima ao canto lateral do olho, é uma estrutura tubuloacinar exócrina. Nos animais domésticos, sua inervação e controle sob a secreção do filme lacrimal é complexa e não completamente elucidada (PAUL E. MILLER, 2012).

Sua inervação é composta por fibras do ramo oftálmico do nervo trigêmeo, nervo facial, gânglio pterigopalatino, fibras simpáticas do plexo carotídeo (PAUL E. MILLER, 2012) e fibras parassimpáticas pós-ganglionares que se unem ao nervo lacrimal a caminho da glândula lacrimal (SINGH, 2018). A mesma dispõe de inervação simpática e parassimpática, com predominância do sistema parassimpático, tanto anatomicamente quando funcionalmente (DING; WALCOTT; KEYSER, 2001; RÍOS et al., 2005).

A secreção da camada aquosa é fomentada principalmente por reflexos sob controle autônomo, mediados pelo nervo trigêmeo (PAUL E. MILLER, 2012). Em humanos, os agonistas colinérgicos, liberados dos nervos parassimpáticos, e a norepinefrina, liberada dos nervos simpáticos localizados na córnea e conjuntiva são os mediadores químicos envolvidos na secreção da glândula lacrimal (DARTT, 2004; TIFFANY, 2008).

O exame mais utilizado na clínica de pequenos animais para a quantificação da fração aquosa da lágrima é o teste lacrimal de Schirmer (TLS) (SEBBAG; KASS; MAGGS, 2015; WILLIAMS, 2017). Consiste no posicionamento de uma tira de papel filtro na porção central do saco conjuntival inferior durante 1 minuto (STILES; KIMMITT, 2016). Em gatos, os valores de referência variam entre 7–34mm/min (SEBBAG; KASS; MAGGS, 2015).

A produção lacrimal pode ser influenciada por afecções oculares e sistêmicas, fatores anatômicos e fisiológicos, além de fatores relacionados às tiras do TLS (AFTAB; RAJAEI; FAGHIHI, 2018; FAGHIHI et al., 2019). É especulado que a estimulação simpática induzida pelo estresse em gatos reduz temporariamente a produção lacrimal, por este motivo, sugere-se que o TLS apresenta valores pouco fidedignos nessa espécie. (LIM et al., 2009; SEBBAG et al., 2018).

Por serem animais de hábitos, pequenas mudanças na rotina e no ambiente dos gatos domésticos podem ocasionar estresse. Para a maioria deles, a simples visita a um consultório veterinário induz à ansiedade e estresse (MARITI et al., 2016; VOGT et al., 2010).

Apesar da deficiência quantitativa da lágrima ser pouco relatada em gatos, presume-se que a mesma seja sub-diagnosticada (SEBBAG et al., 2018). Pressupõe-se que isto ocorra uma vez que os gatos não apresentam sinais comumente observados na ceratoconjuntivite seca em cães, somado a limitada confiabilidade que o teste apresenta na espécie (SEBBAG et al., 2018; UHL et al., 2019). Além disso, a epífora é o achado clínico mais frequente no atendimento de felinos, alterando valores do TLS (STILES; KIMMITT, 2016).

Por esta razão, se faz necessário estabelecer a influência que o estresse agudo pode exercer sobre a produção lacrimal na espécie felina, a fim de oferecer bases para a indicação de minimização dos estímulos estressores durante a avaliação oftálmica, estabelecendo assim a eficácia do TLS na avaliação quantitativa da lágrima.

### **2 OBJETIVOS**

#### 2.1 GERAL

Investigar a influência dos estímulos estressores externos na produção lacrimal em gatos hígidos.

# 2.2 ESPECÍFICOS

- Verificar se a estimulação simpática ambiental interfere na produção lacrimal, mensurável por TLS, de gatos hígidos.
- Averiguar a confiabilidade do teste lacrimal de Schirmer em gatos sob condições ambientais diversas.
- Verificar se o manejo cat friendly facilita a execução do teste.

# 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. ANIMAIS

A pesquisa foi conduzida na Superintendência Unidade Hospitalar Veterinária Universitária (SUHVU) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFFS, N°3674180521.

Vinte e quatro gatos (48 olhos) hígidos (12 machos e 12 fêmeas), sem raça definida, não castrados, com idade entre 8 meses e 7 anos, sem histórico de doenças oculares, foram utilizados mediante autorização prévia dos tutores (Anexo 1).

Os animais foram submetidos ao exame físico geral, exame oftálmico incluindo TLS I (DrogaVet<sup>®</sup> lote 13122132), teste de coloração por colírios de fluoresceína 1% e lissamina verde 1% (DrogaVet<sup>®</sup>), teste de quebra do filme lacrimal, teste de Jones, biomicroscopia com lâmpada de fenda e oftalmoscopia direta PanOpitc<sup>TM</sup> e exames laboratoriais (hemograma, dosagens séricas de uréia, creatinina, ALT, GGT, fosfatase alcalina, albumina, proteínas totais e teste Alere<sup>TM</sup> FIV Ac/FeLV Ag. Foram excluídos aqueles que apresentaram alterações em um ou mais exames citados.

# 3.2. AMBIENTAÇÃO

Após a triagem, os animais selecionados foram alocados aleatoriamente em quatro grupos contendo seis animais cada (3 machos e 3 fêmeas), sendo hospedados um grupo por semana.

Os animais foram alojados em boxes individuais de aço inox com dimensões 240x60x60cm, contendo potes para água e comida (fornecidos *ad libitum*), caixa de areia, cobertor e caixa para esconderijo. Como enriquecimento ambiental, cada boxe continha um brinquedo suspenso do teto da gaiola e dois brinquedos contendo *catnip* (*Nepeta cataria*).

Cada grupo ficou hospedado durante seis dias em ambiente com controle de ruídos, temperatura (25°C) e luminosidade (12 horas de luz artificial e 12 horas de escuro), a fim de ambientá-los. Durante todo o período da hospedagem, um difusor de FELIWAY Classic<sup>®</sup> foi utilizado.

# 3.3. TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER I

Os TLS foram realizados no período da manhã (entre 9h – 11h), em ambientes controlados, executados pelo mesmo examinador. As fitas foram posicionadas na porção central do saco conjuntival inferior, durante 1 minuto em ambos os olhos (STILES; KIMMITT, 2016).

Não houve manipulação das pálpebras durante o teste. Todas as fitas pertenciam ao mesmo lote (DrogaVet<sup>®</sup> lote 13122132).

Durante o exame, os animais foram contidos na mesa na posição quadrupedal, com auxílio de um cobertor, pelo mesmo auxiliar. A frequência cardíaca (FC) foi avaliada imediatamente antes do TLS (FcA), durante (10 segundos após o posicionamento das tiras) (FcT) e depois (30 segundos após o teste) (FcD).

A ordem do teste (olho direito ou esquerdo) foi randomizada para cada animal através de um software próprio para este fim (http://www.randomization.com).

# 3.4. ESCORE DE ESTRESSE AMBIENTAL

Com base no comportamento de cada animal (Anexo 3), foi aplicado uma escala numérica descritiva para avaliação do escore de estresse ambiental (antes do início do TLS) (Anexo 2), executada por dois observadores (um aluno de graduação e um aluno de pósgraduação).

A escala foi adaptada com base no escore proposto por Kessler e Turner (1997) e classificou os animais por meio de pontuação de 1 a 4 (relaxado, tenso, temeroso e aterrorizado), sendo acrescidos 0,5 pontos para aqueles que não se enquadravam totalmente em uma classificação.

# 3.5. TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER I SEM ESTRESSE

No quinto dia da ambientação, os animais foram conduzidos individualmente, contidos por um cobertor previamente borrifado FELIWAY Classic® spray, para o ambulatório 1, contendo um difusor de FELIWAY Classic® e música específica para gatos a 60 dB (Scooter Bere's de David Teie). Antes do início do TLS, era aguardado um período 5 minutos para a aclimatação dos gatos. Técnicas de manejo *cat friendly* foram aplicadas durante toda execução (RODAN et al., 2011).

# 3.6. TESTE LACRIMAL DE SCHIRMER I COM ESTRESSE

Foi realizado no sexto dia da ambientação. Os animais foram individualmente conduzidos por meio de caixa de transporte até o ambulatório 3, contendo estímulos estressores sonoros (gravações de cães latindo, gatos brigando e burburinho de pessoas a 70dB), além de um terceiro auxiliar desconhecido pelos gatos. A mensuração da produção lacrimal foi realizada um minuto após a chegada ao ambulatório.

#### 3.7. CONDICIONAMENTO

A fim de minimizar o estresse causado pelo próprio TLS, os animais foram condicionados diariamente, sob as mesmas condições do TLS I sem estresse. Para este fim, fitas de filtro comum recortadas nas dimensões de 0,5 x 5cm foram posicionadas na porção central do saco conjuntival inferior, durante um minuto em ambos os olhos (STILES; KIMMITT, 2016). Logo após os animais eram recompensados com petisco próprio para gatos.

# 3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores de TLS I foram obtidos pela média do olho esquerdo e olho direito em cada gato, uma vez atestada a não diferença de produção de lágrimas entre os dois olhos. A frequência cardíaca média foi obtida pela média de FcA+FcT+FcD.

A mediana e os valores mínimos e máximos foram usados para descrever as variáveis, uma vez que os pressupostos de normalidade e homocedasticidade não foram atendidos para as variáveis. As médias de frequência cardíaca para antes (FcA), durante (FcT) e pós-estresse (FcD) foram comparadas via teste ANOVA para medidas repetidas. Quando significativo para a diferença, realizou-se o pós-teste de comparação par-a-par de Bonferroni. As medianas de TLS, escore ambiente e escore teste foram comparadas antes e pós-intervenção via teste não paramétrico de Mann-Whitney. O nível de significância (α) foi de 5% para todos os testes.

Para verificar a correlação do escore ambiente e da frequência cardíaca (variáveis independentes) com os valores de TLS (variável dependente), foi utilizado o Coeficiente de Correlação de Kendall (τ). O τ mede a associação entre duas variáveis por meio de *ranks*, sendo indicado para dados não lineares e de amostra pequena (<24). Como resultado, os valores dos coeficientes variam de -1 a +1. Quanto mais próximo dos extremos (-1 ou 1), maior a força da correlação, enquanto valores relativos a 0 implicam correlações mais fracas ou inexistentes. O sinal de mais ou menos indica a direção do relacionamento. Se positivo, o aumento de uma variável implica no aumento da outra variável; se negativo, o aumento de uma variável implica na diminuição da outra.

Todos os testes e gráficos foram realizados no software R. Os pacotes utilizados foram: *corrplot*, *ggplot2*, *stats*, pacman, dplyr, rstatix, lmtest.

# 4. RESULTADOS

Do total de vinte e cinco gatos avaliados, vinte e quatro atingiram os critérios de inclusão para envolvimento neste estudo. Os valores obtidos das frequências cardíacas, escore de estresse ambiente e TLS foram tabelados para cada animal (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores obtidos das frequências cardíacas, escore de estresse ambienre e TLS para cada animal nos dias sem estresse e com estresse.

	FREQUÊNCIA			ESCORE DE TLS								
			CARDÍACA ESTRESSE									
		S/E		C/E		S/E	C/E	S/E		C/E		
ANIMAL	FcA	FcT	FcD	FcA	FcT	FcD			OD	OE	OD	OE
1	180	212	160	172	160	144	1	3,5	9	3	10	1
2	164	192	132	280	240	224	1	3,5	10	15	18	25
3	164	240	192	220	176	176	1	3,5	31	26	35	35
4	192	240	200	272	240	240	1	2	18	10	18	15
5	172	120	176	180	160	200	1,5	3,5	4	11	20	20
6	176	164	136	240	200	192	1	3,5	26	26	30	29
7	224	260	280	280	140	280	1	3,5	20	25	22	29
8	168	148	140	300	200	168	1,5	3,5	19	18	21	18
9	200	180	200	288	240	220	1	3	25	25	20	29
10	144	128	132	176	152	164	1	3,5	16	8	24	22
11	152	144	140	188	160	140	1,5	2,5	17	14	23	20
12	184	176	152	224	184	188	1	2,5	18	15	23	17
13	152	160	128	220	192	168	1	2,5	5	3	19	8
14	176	180	220	292	300	296	1,5	3,5	24	24	21	30
15	164	192	164	240	220	220	1,5	3,5	21	23	23	23
16	136	180	136	280	200	200	1	3,5	18	24	20	23
17	176	200	176	280	200	280	1	3,5	11	17	23	28
18	160	160	152	260	232	232	1,5	3,5	8	19	24	23
19	180	138	128	200	192	160	1	3,5	22	20	30	26
20	192	168	172	188	172	164	1	3,5	22	18	26	20
21	192	160	152	272	240	220	3	4	21	20	25	23
22	132	132	140	192	160	176	1	3,5	5	10	10	15
23	148	148	148	200	180	164	1	3	17	23	23	24
24	240	200	200	240	200	228	1,5	3,5	29	27	29	27

<sup>\*</sup>S/E = sem estresse; C/E = com estresse

Quando agrupada pela média, a mediana do TLS se apresentou maior durante a intervenção com agente estressor em comparação ao período sem estresse (U= 173, p= 0,0166) (figura 1). O mesmo padrão de diferenças de medianas foi visto para a frequência cardíaca (U= 105,5, p=<0,001) (figura 2) e escore ambiente (U= 5, p<0,001) (figura 3).

Figura 1 – Gráfico de caixas para a variável TLS, com valores medianos, 1° e 3° quartil e limite inferior e superior. Os pontos são outliers (valor com comportamento discrepante aos demais).

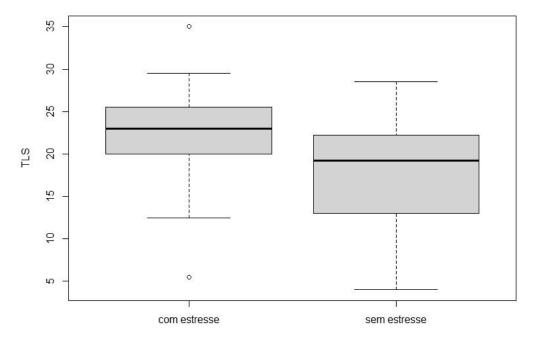


Figura 2. Gráfico de caixas para a variável frequência cardíaca, com valores medianos, 1º e 3º quartil e limite inferior e superior. Os pontos são outliers (valor com comportamento discrepante aos demais).

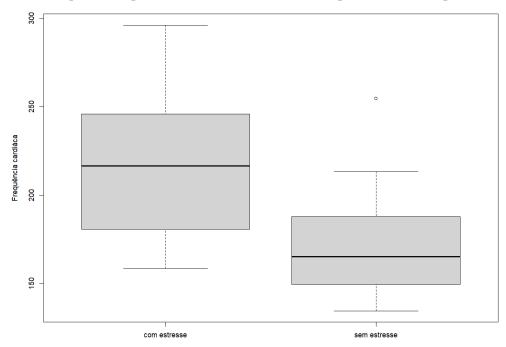
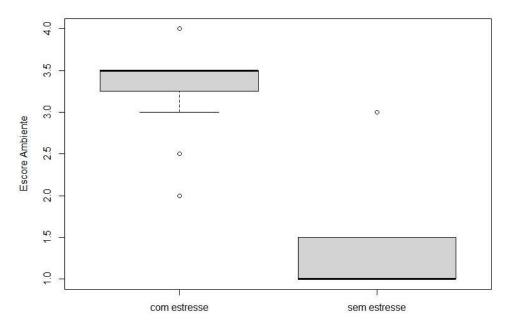


Figura 3. Gráfico de caixas para a variável Escore ambiente, com valores medianos, 1º e 3º quartil e limite inferior e superior. Os pontos são outliers (valor com comportamento discrepante aos demais).



No dia sem estresse, as fêmeas apresentaram mediana de TLS de 16 (6-28,5) e os machos 20,25 (4-28). O teste de Mann-Whitney não encontrou diferença significativa (U=66, p=0,744434) de TLS entre macho e fêmea. No dia com estresse, as fêmeas apresentaram mediana de TLS de 21,5 (5,5-35) e os machos 23,5 (12,5-28). O teste de Mann-Whitney não encontrou diferença significativa (U=58, p=0,43242) de TLS entre macho e fêmea.

No dia sem estresse a mediana de escore ambiente das fêmeas foi 1 (1-1,5) e dos machos 1 (1-3). No dia com estresse a mediana de escore ambiente das fêmeas foi 3,5 (2-3,5), a dos machos foi 3,5 (2,5-4). O teste de Mann-Whitney não indicou diferença significativa (U=58,5, p=0,48916).

O TLS não está correlacionado ao escore ambiente (z = 1,6874, p-value = 0,09152,  $\tau$ =0.2849852, nem com a FC (frequência cardíaca) (z = 1,8446, p-value = 0,0651,  $\tau$ = 0,2751405), porém percebe-se que o TLS apresenta um aumento na variância dos dados com o aumento do escore ambiental (figura 4). O escore ambiente não está correlacionado a FC (z = 0,43615, p-value = 0,6627,  $\tau$ = 0,07252426).

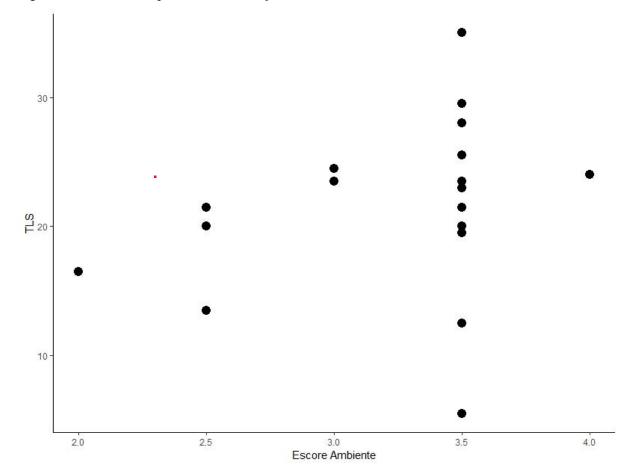


Figura 4. Gráfico de dispersão da não relação entre TLS e Escore ambiente.

# 5. DISCUSSÃO

O TLS é uma ferramenta diagnóstica amplamente utilizada na mensuração da produção lacrimal (SEBBAG; KASS; MAGGS, 2015; WILLIAMS, 2017; AFTAB; RAJAEI; FAGHIHI, 2018). Entretanto, diversos fatores podem influenciar seus resultados, como o ritmo circadiano, clima, além das próprias tiras do teste (AFTAB; RAJAEI; FAGHIHI, 2018; FAGHIHI et al., 2019). Para minimizar possíveis influências nos resultados, os testes conduzidos pertenciam ao mesmo lote e foram executados no mesmo período do dia, em ambientes controlados.

Especula-se que a estimulação simpática induzida pelo estresse, diminua momentaneamente a produção lacrimal na espécie felina (LIM et al., 2009; SEBBAG et al., 2018). No entanto, não há comprovação científica que corrobore com tal hipótese.

Contrariando esta teoria, foi observado neste estudo, que os valores de TLS foram maiores durante a intervenção com agente estressor, quando comparados ao dia onde foi utilizado o manejo *cat friendly* (p=0,0166).

Sebbag et al. (2020) ao avaliarem a produção lacrimal em gatos, também verificaram que o estresse não diminui a produção lacrimal, todavia, o mesmo não encontrou diferença entre

os valores de TLS para os animais estimulados por estressores quando comparados aos não estimulados.

A diferença encontrada nos valores de TLS com e sem estresse, quando comparados ao estudo conduzido por Sebbag et al. (2020) poderia ser explicada pois crê-se que a ambientação dos animais e o condicionamento diário utilizados neste estudo, somados ao manejo *cat friendly*, foram capazes de remover o efeito estressor, tornando possível a avaliação da influência exercida pelo estresse agudo sobre a produção lacrimal.

A ativação do sistema nervoso simpático frente a resposta ao estresse agudo resulta no aumento da frequência cardíaca e pressão arterial sistêmica, midríase, elevação do nível de glicose sanguínea e ácidos graxos livres, além do estado de excitação (LEFMAN; PRITTIE, 2019). Durante a intervenção pelo estresse, foi observado o aumento da frequência cardíaca e midríase, demonstrando que o modelo experimental utilizado para induzir o estresse foi efetivo. Além disso, também foi observado maiores escores de estresse ambiente durante a intervenção.

O exato mecanismo pelo qual a inervação simpática contribui na secreção lacrimal ainda é desconhecido, porém sabe-se que estes nervos estimulam a secreção pela liberação de norepinefrina e neuropeptídeo Y (DARTT, 2009). Whitwell (1961), demonstrou que o TLS de um gato foi maior quando a inervação simpática da glândula lacrimal foi estimulada eletricamente, quando comparada ao olho contralateral não estimulado. Presume-se que a ativação simpática durante a resposta ao estresse estimula a secreção lacrimal, porém estudos são necessários a fim de elucidar este processo.

Não foi encontrado, neste estudo, correlação entre a frequência cardíaca e os valores do TLS. Ainda que o mecanismo da secreção lacrimal não seja completamente elucidado, presume-se que a frequência cardíaca não exerça influência direta na secreção da mesma.

Apesar de não ter sido encontrado correlação entre o escore de estresse ambiente e os valores de TLS, nota-se que o TLS apresentou um aumento na variância dos dados com o aumento do escore ambiental. Uma hipótese para esta correlação não ter sido encontrada é que o escore proposto por Kessler e Turner (1997), embora amplamente utilizado, não apresenta especificidade na avaliação e quantificação do estresse (MCCOBB et al., 2005; MCMILLAN, 2012).

Valores normais de TLS em gatos variam entre 7–34mm/min (SEBBAG; KASS; MAGGS, 2015). Para Veith et al. (1970), valores menores que 6mm/min devem ser considerados anormais. Sebbag et al. (2015), sugere que valores menores que 9mm/min associados a sinais clínicos de ceratoconjuntivite seca são diagnósticos para a deficiência lacrimal quantitativa. Porém, a literatura aponta que gatos hígidos podem apresentar valores

baixos como 0mm/mim (MARTIN CL, 2009; GELATT, 2014) . Neste estudo, 4 dos 24 animais, apresentaram valores de TLS abaixo de 7mm/min para o dia sem a intervenção pelo estresse, e apenas 1/24 apresentou 1mm/min em um dos olhos durante a intervenção. Notou-se aumento na produção lacrimal em 23/24 dos animais durante a intervenção pelo estresse, porém os valores obtidos são considerados normais para a espécie.

Apesar da influência do gênero ser reportada em estudos retrospectivos de ceratoconjuntivite seca em cães (SANSOM; BARNETT, 1985), pesquisas demonstram que a produção lacrimal é equivalente em ambos os sexos, tanto para cães (HARTLEY; WILLIAMS; ADAMS, 2006; OFRI et al., 2011) quanto para gatos (RAJAEI et al., 2019; SEBBAG; KASS; MAGGS, 2015). Neste estudo, não houve diferença no TLS entre os sexos.

Alguns gatos podem apresentar desconforto durante a execução do TLS (ORIÁ et al., 2015). Verificou-se que, quando utilizado o manejo *cat friendly* no dia sem a intervenção pelo estresse os animais toleraram bem o posicionamento das tiras do teste, permitindo contenção mínima, já durante a intervenção pelo estresse, muitos deles tentavam fugir da contenção e retirar as fitas.

O baixo número de animais e a heterogeneidade do grupo são fatores limitantes neste estudo e as diferenças encontradas podem não ser reais para uma população inteira. Entretanto, este estudo visou reduzir potenciais variações entre raça, idade, sexo e comportamento dos animais.

# 6. CONCLUSÕES

Os resultados encontrados sugerem que o estresse agudo seja capaz de aumentar a produção lacrimal em gatos. Embora os valores obtidos no TLS durante a intervenção pelo estresse estejam dentro da normalidade, acredita-se que isto possa mascarar uma possível deficiência quantitativa do filme lacrimal. Verificou-se que o uso de manobras *cat friendly* facilitam a realização do exame, deixando os animais mais calmos durante a execução e oferecendo valores de TLS mais fidedignos, tornando o TLS confiável para a espécie felina.

# 7. REFERÊNCIAS

AFTAB, G.; RAJAEI, S. M.; FAGHIHI, H. Comparison of the Schirmer tear test I values after placement in ventral and dorsal conjunctival fornices in healthy cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 20, n. 12, p. 1169–1172, 2018.

AMAT, M.; CAMPS, T.; MANTECA, X. Stress in owned cats: behavioural changes and welfare implications. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 18, n. 8, p. 577–586, 2016.

CHROUSOS, G. P. Stress and disorders of the stress system. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 5, n. 7, p. 374–381, 2009.

DARTT, D. A. Interaction of EGF family growth factors and neurotransmitters in regulating lacrimal gland secretion. **Experimental Eye Research**, v. 78, n. 3, p. 337–345, 2004.

DARTT, D. A. Neural Regulation of Lacrimal Gland Secretory Processes: Relevance in Dry Eye Diseases. **Progress in Retinal and Eye Research**, v. 28, n. 3, p. 155–177, 2009.

DHABHAR, F. S. Stress-induced augmentation of immune function - The role of stress hormones, leukocyte trafficking, and cytokines. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 16, n. 6, p. 785–798, 2002.

DING, C.; WALCOTT, B.; KEYSER, K. T. Neuronal nitric oxide synthase and the autonomic innervation of the mouse lacrimal gland. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 42, n. 12, p. 2789–2794, 2001.

DRAGOŞ, D.; TĂNĂSESCU, M. D. The effect of stress on the defense systems. **Journal of medicine and life**, v. 3, n. 1, p. 10–18, 2010.

FAGHIHI, H. et al. Pilot evaluation of the circadian rhythm of tear production in a population of healthy adult cats. **Veterinary Ophthalmology**, v. 22, n. 6, p. 916–920, 17 nov. 2019.

GELATT, K. **Essentials of Veterinary Ophthalmology**. 3. ed. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2014.

HARTLEY, C.; WILLIAMS, D. L.; ADAMS, V. J. Effect of age, gender, weight, and time of day on tear production in normal dogs. **Veterinary Ophthalmology**, v. 9, n. 1, p. 53–57, jan. 2006.

KESSLER, M.; TURNER, D. Effects of density and cage size on stress in domestic cats (Felis silvestrus catus) housed in animal shelters and boarding catteries. **Animal Welfare**, v. 6, n. 3, p. 243–254, 1997.

KLEIN, B. G. Cunningham tratado de fisiologia veterinária. 5. ed. [s.l.] Elsevier, 2017.

KOOLHAAS, J. M. et al. Stress revisited: A critical evaluation of the stress concept. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, abr. 2011.

LEFMAN, S. H.; PRITTIE, J. E. Psychogenic stress in hospitalized veterinary patients: Causation, implications, and therapies. Journal of Veterinary Emergency and Critical CareBlackwell Publishing Ltd., 1 mar. 2019.

LEVINE, E. D. Feline Fear and Anxiety. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 38, n. 5, p. 1065–1079, set. 2008.

LIM, C. C. et al. Effects of feline herpesvirus type 1 on tear film break-up time, Schirmer tear test results, and conjunctival goblet cell density in experimentally infected cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 70, n. 3, p. 167–170, 2009.

MARITI, C. et al. Guardians' Perceptions of Cats' Welfare and Behavior Regarding Visiting Veterinary Clinics. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v. 19, n. 4, p. 375–384, 2016.

MARTIN CL. **Ophthalmic disease in veterinary medicine**. 1. ed. London: Manson Publishing, 2009.

MCCOBB, E. C. et al. Assessment of stress levels among cats in four animal shelters. **Journal** of the American Veterinary Medical Association, v. 226, n. 4, p. 548–555, 15 fev. 2005.

MCEWEN, B. S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: Central role of the brain. **Physiological Reviews**, v. 87, n. 3, p. 873–904, 2007.

MCMILLAN, F. D. Stress versus fear in cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 240, n. 8, p. 936, 15 abr. 2012.

MOBERG, G. P. Biological response to stress: implications for animal welfare. Em: MOBERG, G. P.; MENCH, J. A. (Eds.). **The biology of animal stress. Basic principles and implications for animal welfare**. Wallingford: CABI Publishing, 2000. p. 1–21.

NÖLLER, C. et al. Computed tomography-anatomy of the normal feline nasolacrimal drainage system. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v. 47, n. 1, p. 53–60, 2006.

OFRI, R. et al. **The effect of neutering on tear production in dogs**. European College of Veterinary Ophthalmologists. **Anais**...Berlin: maio 2011.

ORIÁ, A. P. et al. LACRIMAL PRODUCTION OF CATS: SCHIRMER TEAR TEST, PHENOL RED THREAD TEAR TEST AND ENDODONTIC ABSORBENT PAPER POINT. **Enciclopédia Biosfera**, p. 2085–2091, 3 dez. 2015.

PAUL E. MILLER. Lacrimal System. Em: MAGGS, D. J.; PAUL E. MILLER, P. E.; OFRI, R. (Eds.). **Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**. 5. ed. [s.l.] Saunders, 2012. p. 414–454.

RAJAEI, S. M. et al. Evaluation of tear production using the Schirmer tear test I in healthy cats; effect of age, life stage, sex, breed and neuter status. **Veterinary Record**, v. 184, n. 26, p. 799–799, jun. 2019.

RIBEIRO, A. P. et al. Qualitative and quantitative tear film abnormalities in dogs. **Ciencia Rural**, v. 38, n. 2, p. 568–575, 2008.

RÍOS, J. D. et al. Age-dependent alterations in mouse exorbital lacrimal gland structure, innervation and secretory response. **Experimental Eye Research**, v. 80, n. 4, p. 477–491, 2005.

RODAN, I. et al. AAFP and ISFM Feline-Friendly Handling Guidelines. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 13, n. 5, p. 364–375, maio 2011.

SAMUELSON, D. A. Ophthalmic Anatomy. Em: KIRK N. GELATT (Ed.). **Veterinary Ophthalmology**. 5. ed. [s.l.] Wiley-Blackwell, 2013. p. 39–170.

SANSOM, J.; BARNETT, K. C. Keratoconjunctivitis sicca in the dog: a review of two hundred cases. **Journal of Small Animal Practice**, v. 26, n. 3, p. 121–131, mar. 1985.

SAPOLSKY, R. M.; ROMERO, L. M.; MUNCK, A. U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocrine Reviews**, v. 21, n. 1, p. 55–89, 2000.

SEBBAG, L. et al. Feline dry eye syndrome of presumed neurogenic origin: a case report. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, v. 4, n. 1, p. 205511691774678, 2018.

SEBBAG, L. et al. Investigation of Schirmer tear test-1 for measurement of tear production in cats in various environmental settings and with different test durations. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 256, n. 6, p. 681–686, 15 mar. 2020.

SEBBAG, L.; KASS, P. H.; MAGGS, D. J. Reference values, intertest correlations, and test-retest repeatability of selected tear film tests in healthy cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 246, n. 4, p. 426–435, 2015.

SINGH, B. Dyce, Sack and Wensing's Textbook of Veterinary Anatomy. 5. ed. Missouri: Elsevier, 2018.

STILES, J.; KIMMITT, B. Eye examination in the cat: Step-by-step approach and common findings. Journal of Feline Medicine and SurgerySAGE Publications Ltd., 1 set. 2016.

TIFFANY, J. The normal tear film. **Developments in Ophthalmology**, v. 41, p. 1–20, 2008.

TSIGOS, C. et al. Stress, Endocrine Physiology and Pathophysiology. **Endotext**, p. 1–45, 2000.

UHL, L. K. et al. Clinical features of cats with aqueous tear deficiency: a retrospective case series of 10 patients (17 eyes). **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 21, n. 10, p. 944–950, 2019.

VEITH, L.; CURE, T.; GELLAT, K. The Schirmer tear test in cats. **Mod Vet Pract**, v. 51, p. 48–49, 1970.

VOGT, A. et al. Feline Life Stage Guidelines. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 46, p. 70–85, 2010.

WEBSTER MARKETON, J. I.; GLASER, R. Stress hormones and immune function. **Cellular Immunology**, v. 252, n. 1–2, p. 16–26, 2008.

WHITWELL, J. ROLE OF THE SYMPATHETIC IN LACRIMAL SECRETION. **British Journal of Ophthalmology**, v. 45, n. 6, p. 439–445, 1 jun. 1961.

WILLIAMS, D. Canine Keratoconjunctivitis Sicca: Current Concepts in Diagnosis and Treatment. **Journal of Clinical Ophthalmology and Optometry**, v. 2, n. 1, p. 1–7, 2017.

# ANEXO 1

# TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

# AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ESTRESSE NA PRODUÇÃO LACRIMAL DE GATOS HÍGIDOS

### CEUA Nº3674180521

- **1. Natureza da pesquisa**: o Sr. (sra.) está sendo convidada (o) a autorizar a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa que tem como finalidade avaliar os efeitos do estresse na produção lacrimal de gatos hígidos.
- 2. Identificação do(s) animal(is): Serão utilizadas 24 gatos hígidos, 12 machos e 12 fêmeas, sem raça definida, com idade entre 8 meses a 6 anos, não castrados, sem histórico de doenças oculares.
- **3. Envolvimento na pesquisa**: ao participar deste estudo o Sr. (Sra.) permitirá que o (a) pesquisador (a) realize anamnese, exame físico, exames laboratoriais e exame oftálmico, além da ambientação dos animais durante seis dias. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do (a) pesquisador (a) do projeto e, se necessário através do telefone da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).
- **4. Sobre os dados necessários:** Será realizada anamnese, exame físico geral e oftálmico. Será realizada a coleta de sangue para exames laboratoriais (hemograma, dosagem de ureia, creatinina, ALT, GGT, PT e albumina, e teste rápido Alere FIV Ac/FelV Ag). Durante a ambientação os animais serão condicionados à manipulação e ao TLS. No quinto e sexto dia da ambientação serão realizados TLS e aferição da frequência cardíaca (Estetoscópio).
- **5. Riscos e desconforto**: a participação nesta pesquisa não traz complicações legais. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Princípios Éticos na Experimentação Animal segundo o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), Lei Federal 11794, de 08 de outubro de 2008 e à Lei Estadual 11977, de 25 de agosto de 2008.
- 6. Benefícios: esperamos que este estudo traga informações importantes sobre a influência que

o estresse agudo pode exercer sobre a produção lacrimal na espécie felina, a fim de oferecer bases para a indicação de minimização dos estímulos estressores durante a avaliação oftálmica, estabelecendo assim a eficácia do TLS na avaliação quantitativa da lagrima. O pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos.

**7. Pagamento**: o Sr. (Sra.) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem:

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa.

Nome do Proprietário:	
Número do documento ( CPF):	
Nome do Animal:	
Nome e Assinatura do Proprietário	Nome e Assinatura do Pesquisador

Realeza, de de 2022

ANEXO 2

# ANÁLISE COMPORTAMENTAL (ADAPTADO DE KESSLER E TURNER , 1997)

PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DO ESTRESSE FELINO						
Cabeça e pescoço 1. Musculatura relaxada						
	2. Pescoço contraído contra o corpo					
	3. Pescoço esticado acima da linha do					
	pescoço					
Corpo e membros	1. Relaxado					
	2. Curioso					
	3. Contido					
	4. Fuga					
Cauda	Pouca ou nenhuma movimentação					
	2. Estendida ou levemente enrolada					
	3. Para cima ou relaxada para baixo					
	4. Para baixo entre as patas traseiras					
	5. Curvada					
	6. Movimentação rápida para o lado					
	7. Eriçada					
	8. Agitação rápida					
Orelha	Para frente e ligeiramente para o lado					
	2. Para cima e para frente					
	3. Leve rotação lateral e achatamento					
	4. Totalmente para trás e plana para o crânio					
	5. Uma para frente e uma para o lado					
Olhos	1. Fechados					
	2. Semiabertos					
	3. Abertos					
	4. Fechados e pressionados					
	5. Bem abertos					
	6. Arregalados					

Pupilas	1. Miose
	2. Normais
	3. Midríase
	4. Midríase parcial
Vocalização	1. Nenhum
	2. Ronronar
	3. Miado
	4. Miado de lamento
	5. Rosnar
	6. Gritar
Conforto	1. Bocejo
	2. Espreguiçar
	3. Kneading
	4. Pedir carinho
	5. Brincar
Interação	1. Positiva*
	2. Neutra**
	3. Negativa***

<sup>\*</sup>aceita a aproximação e reage de forma positiva ao toque; \*\*aceita a aproximação, mas não tem nenhuma reação ao toque; \*\*\*sinais agonísticos (eriçar pelos, arquear costas, patada, arranhar, morder)

ANEXO 3  $\mbox{ESCORE DE ESTRESSE AMBIENTAL (ADAPTADO DE KESSLER E TURNER \,, } \mbox{1997} )$ 

PARÂMETROS	ESCORE DE ESTRESSE FELINO						
	1 – Relaxado	2 – Tenso	3 – Temeroso	4 – Aterrorizado			
Cabeça e	Musculatura	Pescoço	Pescoço	Pescoço esticado			
pescoço	relaxada	contraído	contraído	acima da linha do			
		contra o corpo	contra o corpo	corpo			
Corpo e	Relaxado	Contido	Contido	Fuga			
membros	Relaxado e	Contido e					
	curioso	curioso					
Cauda	Pouca ou	Para baixo entre	Movimentos	Eriçada			
	nenhuma	as patas	rápidos para o	Curvada			
	movimentação	traseiras	lado	Agitação rápida			
	Estendida ou	Curvada	Curvada				
	levemente						
	enrolada						
	Para cima ou						
	relaxada para						
	baixo						
Orelhas	Para frente e	Para cima e	Leve rotação	Totalmente para			
	ligeiramente	para frente	lateral e	trás e plana para			
	para o lado	Leve rotação	achatamento	o crânio			
	Para cima e	lateral e	Uma para frente				
	para frente	achatamento	e uma para o				
			lado				
Olhos	Fechados	Fechados e	Bem abertos	Arregalados			
	Semiabertos	pressionados					
	Abertos e	Bem abertos					
	normais						

Pupilas	Normais	Normais	Midríase	Midríase
		Midríase	parcial	
		parcial	Midríase	
Vocalização	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum
	Ronronar	Ronronar	Miado de	Miado de
	Miado	Miado de	lamento	lamento
		lamento	Gritar	Gritar
			Rosnar	Rosnar
Conforto	Bocejo	Nenhum	Nenhum	Nenhum
	Espreguiçar			
	Kneading			
	Pedir carinho			
	Brincar			
Interação	Positiva	Neutra	Neutra	Negativa
			Negativa	