

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

TESTES COGNITIVOS PARA AVALIAÇÃO DE MEMÓRIA E
APRENDIZADO EM CÃES (*Canis lupus familiaris*)

MARTA CRISTINA THOMAS HECKLER

Botucatu – SP
Fevereiro/2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

TESTES COGNITIVOS PARA AVALIAÇÃO DE MEMÓRIA E APRENDIZADO
EM CÃES (*Canis lupus familiaris*)

MARTA CRISTINA THOMAS HECKLER

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Ass. Dr. Rogério Martins
Amorim

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Divisão Técnica de Biblioteca e Documentação - Campus De Botucatu - UNESP
Bibliotecária responsável: *Sulamita Selma Clemente Colnago* – CRB 8/4716

Heckler, Marta Cristina Thomas.

Testes cognitivos para avaliação de memória e aprendizado em cães
(*Canis lupus familiaris*) / Marta Cristina Thomas Heckler. - Botucatu, 2011

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011

Orientador: Rogério Martins Amorim

Capes: 50501062

1. Neurologia veterinária.

Palavras-chave: Aprendizado por discriminação; Cognição; Neurologia
veterinária; Reversão de aprendizagem; Síndrome da disfunção cognitiva;
Testes Neuropsicológicos

Nome do autor: Marta Cristina Thomas Heckler

Título: TESTES COGNITIVOS PARA AVALIAÇÃO DE MEMÓRIA E APRENDIZADO EM CÃES (*Canis lupus familiaris*)

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Ass. Dr. Rogério Martins Amorim

Presidente e Orientador

Departamento de Clínica Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu

Prof. Ass. Dra. Silvia Mitiko Nishida

Membro

Departamento de Fisiologia

Instituto de Biociências – UNESP – Botucatu

Prof. Ass. Dr. Mauro Lantzman

Membro

Departamento de Psicologia do Desenvolvimento

Faculdade de Psicologia da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo

Data da Defesa: 18 de fevereiro de 2011.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a várias pessoas que contribuíram pessoal e/ou profissionalmente para a realização deste estudo.

Agradeço ao colega e amigo Marcos Tranquilim, que foi muito importante para a execução do experimento, sempre disposto a ajudar e a aconselhar quando preciso. Ao colega Denis Svicero agradeço o interesse e a solidariedade de realizar o piloto do projeto com sua própria cachorrinha Luna. Ao colega Dietrich Pizzigatti, agradeço a compreensão e a disponibilidade de ajudar.

Ao professor Rogério Martins Amorim, por ter me aceito como orientada, pelos ensinamentos e por ter me auxiliado nessa caminhada de dois anos.

À professora Flávia Heloisa dos Santos, pela disposição, incentivo e apoio ao nosso trabalho, sempre atenciosa em tirar nossas dúvidas.

A todos do Laboratório Clínico pelo auxílio no processamento dos exames laboratoriais.

Ao prof. Luciano Barbosa por ter contribuído na estatística do trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de mestrado.

Aos proprietários e amigos que também participaram: Carla e Hugo Costa, Mirela Verdugo, Geovana Angélico, Josyanne Oshika, Andrea Orelhana e Carolina Pires, José e Andreza de Oliveira.

Aos queridos amigos cães Boni, Branquinha, Cacá, Kate, Petróquio, Tom, Zé, Kiara, Melanie, Salsicha, Logan, Bruce, Bianca, Jack e Vicky, o meu muito obrigada, pois sem eles o estudo não aconteceria.

Agradeço a meus pais Harry e Rita e a meus irmãos Gláucia e Marcos o amor, o carinho, a preocupação, o incentivo e a dedicação. Saibam que, mesmo longe fisicamente sempre estavam perto de mim.

Às minhas amigas distantes, Carol, Debora e Vanessa obrigada pela amizade. Às minhas amigas Marisol, Mirela e Guadalupe, muito obrigada por sua companhia tão importante em Botucatu. Em especial à minha amiga Carla, pela grande amizade desses quatro anos e por estar sempre ao meu lado, sempre vou lhe ser grata.

Às demais pessoas que contribuíram de alguma forma para minha caminhada, agradeço de coração.

E finalmente a Deus, agradeço por ter tornado possível mais essa fase de minha vida e me dado tantos ensinamentos e bênçãos.

LISTA DE QUADROS

	Página
Capítulo 2	
Quadro 1. Idade de cães considerados idosos em relação ao peso corporal (GOLDSTON, 1989).....	22
Quadro 2. Idade de cães estimada por meio da classificação do desgaste dentário (ASCASO, 1999).....	23
Quadro 3. Questionário aplicado para comprovação da ausência de alterações comportamentais associadas ao envelhecimento.....	24

LISTA DE TABELAS

	Página
Capítulo 2	
Tabela 1. Cães selecionados para a execução da pesquisa.....	22
Tabela 2. Média e desvio padrão das categorias segundo os tipos de testes cognitivos.....	33
Tabela 3. Média e desvio padrão dos dias de testes cognitivos realizados com e sem contato visual com o experimentador e acompanhante.....	34
Tabela 4. Média e desvio padrão dos erros cometidos nos testes cognitivos realizados com e sem contato visual com o experimentador e acompanhante.....	34
Anexos	
Tabela 5. Número de erros cometidos nos testes cognitivos para obtenção do objetivo.....	57
Tabela 6. Número de dias dos testes cognitivos necessários para obtenção do objetivo.....	58
Tabela 7. Número de dias dos testes cognitivos (10 tentativas por dia) necessários para obtenção do objetivo (sem contato visual com o experimentador).....	59
Tabela 8. Número de erros cometidos nos testes cognitivos para obtenção do objetivo (sem contato visual com o experimentador).....	60

LISTA DE FIGURAS

	Página
Capítulo 1	
Figura 1. Aparelho adaptado do <i>Wisconsin General Test Apparatus</i> por Landsberg, 2005.....	7
Capítulo 2	
Figura 2. Aparelho utilizado no estudo, adaptado do <i>Wisconsin General Test Apparatus</i> (MILGRAM <i>et al.</i> , 1994).....	25
Figura 3. Teste de abordagem à recompensa.....	26
Figura 4. Teste de abordagem ao objeto.....	27
Figura 5. Teste de discriminação do objeto.....	27
Figura 6. Teste de aprendizado reverso.....	28
Figura 7. Teste de atraso não ligado à posição.....	29
Figura 8. Teste de atraso não ligado à amostra.....	29
Figura 9. Médias e desvios-padrão de dias dispendidos nos testes cognitivos para obtenção do objetivo.....	31
Figura 10. Médias e desvios-padrão de erros cometidos nos testes cognitivos até a obtenção do objetivo.....	32

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1	
INTRODUÇÃO.....	2
REVISÃO DE LITERATURA.....	5
1. Síndrome da disfunção cognitiva.....	5
1.1. Etiologia.....	5
1.2. Diagnóstico.....	5
1.2.1. Testes cognitivos.....	6
1.2.2. Exames de neuroimagem.....	14
1.2.3. Neuropatologia.....	14
1.3. Tratamento.....	15
CAPÍTULO 2 – Trabalho Científico	
Resumo.....	17
Abstract.....	19
2.1. Introdução.....	20
2.2. Materiais e Métodos.....	21
2.2.1. Local da pesquisa.....	21
2.2.2. Grupo experimental.....	21
2.2.3. Aparelho e Testes Cognitivos.....	23
2.2.4. Análise dos resultados.....	29
2.3. Resultados.....	30
2.4. Discussão.....	34
2.5. Conclusão.....	44
2.6. Referências.....	44
CONCLUSÕES GERAIS.....	51
BIBLIOGRAFIA.....	52
ANEXOS.....	57

HECKLER, M. C. T. **TESTES COGNITIVOS PARA AVALIAÇÃO DE MEMÓRIA E APRENDIZADO EM CÃES (*Canis lupus familiaris*)**. Botucatu, 2011. 60p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O estudo avaliou o desempenho de cães adultos em testes cognitivos, para posteriormente identificar e monitorar alterações cognitivas em cães idosos, além de verificar a viabilidade e selecionar um dos testes para utilização na rotina clínica. Foram utilizados 15 cães adultos hípidos para os testes cognitivos de abordagem à recompensa, abordagem ao objeto, discriminação do objeto, aprendizado reverso, atraso não ligado à posição e atraso não ligado à amostra. Não houve diferença significativa no desempenho quanto ao número de dias quando comparados machos com fêmeas, cães de idade inferior ou superior a quatro anos, cães de peso inferior ou superior a 20 kg, e ainda cães treinados no ambulatório ou em sua própria casa em nenhum dos testes realizados. Os testes de atraso não ligado à posição (DNMP) e de atraso não ligado à amostra (DNMS) não apresentaram diferença significativa entre si. Já a comparação dos testes de discriminação do objeto com o aprendizado reverso apresentou diferença significativa. Conclui-se que o sexo, a idade analisada, o porte e o ambiente do animal não tiveram influência significativa no desempenho dos cães nos testes realizados. O teste de discriminação do objeto foi mais fácil aos cães do que o aprendizado reverso e os testes de DNMP e de DNMS apresentaram dificuldade semelhante aos cães. Sugere-se o teste de DNMP para ser utilizado na rotina clínica para avaliação de cães com alterações cognitivas por ser sensível e de rápido aprendizado.

Palavras-chave: cognição, neurologia veterinária, síndrome da disfunção cognitiva, testes neuropsicológicos, aprendizado por discriminação, reversão de aprendizagem.

HECKLER, M. C. T. **COGNITIVE TESTS TO EVALUATE MEMORY AND LEARNING IN DOGS (*Canis lupus familiaris*)**. Botucatu, 2011. 60p. Dissertation (Mestrado) – School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, São Paulo State University.

ABSTRACT

This paper evaluated the performance of adult dogs in cognitive tests, to after identify and monitor cognitive changes in older dogs, to verify viability and select one of the tests to use in clinical practice. 15 healthy adult dogs were used for the cognitive tests of reward approach learning, object approach learning, object discrimination learning, reversal learning, delay non-matched to position and delay non-matched to sample. There was no significant difference on number of days in performance when compared males with females, dogs younger or older than four years, dogs weighing less or more than 20 kg, and still trained dogs in the clinic or at home in any of the tests. The tests of delay non-matched to position (DNMP) and delay non-matched to sample (DNMS) showed no significant difference between them. The comparison between object discrimination test and reversal learning showed significant difference. We conclude that sex, age, size and environment of the animal had no significant influence on the performance of dogs in tests. The object discrimination test was easier to dogs than reversal learning and DNMP and DNMS had similar difficulty to the dogs. DNMP test is suggested to be used for routine clinical evaluation of dogs with cognitive impairments since it is sensitive and quickly learned.

Keywords: cognition, veterinary neurology, cognitive dysfunction syndrome, neuropsychological tests, discrimination learning, reversal learning.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O envelhecimento representa um complexo processo biológico caracterizado por progressiva modificação de células e tecidos. Com a evolução da nutrição animal e da medicina veterinária, a expectativa de vida de cães e gatos está aumentando. Acompanhando o crescimento da população geriátrica canina, há um aumento na incidência de sinais relacionados ao envelhecimento (KIATIPATTANASAKUL *et al.*, 1996).

O termo síndrome da disfunção cognitiva (SDC) é usado na literatura veterinária para descrever a desordem neurodegenerativa progressiva de cães idosos, caracterizada por um declínio da função cognitiva, que tem características em comum com a doença de Alzheimer (DA), causa mais comum de demência em seres humanos (LANDSBERG, 2005; CUMMINGS *et al.*, 1996 b; ROFINA *et al.*, 2006).

Cognição refere-se a processos mentais como percepção, consciência, aprendizado, memória e tomada de decisões (FRANK, 2008).

Os animais idosos podem mostrar dificuldades de aprendizagem e queda no desempenho de atividades que exigem a memória, devido a processos neuropatológicos (ADAMS *et al.*, 2000 a; CHAN *et al.*, 2002; LANDSBERG e RUEHL, 1997; MILGRAM *et al.*, 1994).

O início do declínio do aprendizado e da memória pode ser demonstrado em cães já aos sete anos de idade, usando-se testes cognitivos. No entanto, casos clínicos de SDC são raramente identificados até os onze anos ou mais. Em cães treinados para tarefas mais específicas, como guias para deficientes visuais, trabalhos militares, detecção de bombas e provas de agilidade, o declínio do desempenho pode ser percebido em uma idade bem mais precoce. Isso ocorre de forma semelhante na DA, já que em seres humanos sob regular avaliação cognitiva, o declínio pode ser percebido muito antes do aparecimento de sinais clínicos mais evidentes (LANDSBERG, 2005; COTMAN *et al.*, 2002).

Muitos proprietários de cães com mudanças comportamentais não buscam orientação veterinária porque assumem, incorretamente, que tais mudanças são aspectos intratáveis do envelhecimento (OSELLA *et al.*, 2007). Por essa

razão, é importante obter uma boa anamnese que inclua informações sobre problemas comportamentais e físicos (DYER, 2005).

Em um estudo realizado nos Estados Unidos, foi verificado que 28% dos proprietários de animais de 11 a 12 anos de idade relataram ao menos um sinal clínico consistente com a SDC, e esse percentual subiu para 68% no caso de cães entre 15 e 16 anos (LANDSBERG, 2005; NEILSON *et al.*, 2001). Porém, nem todas as mudanças comportamentais de cães idosos se devem à SDC (FRANK, 2008). A demência pode resultar de processos neoplásicos, metabólicos, vasculares, inflamatórios, infecciosos, tóxicos, degenerativos e idiopáticos.

Diferentes testes cognitivos vêm sendo desenvolvidos para avaliar o aprendizado e a memória em cães (FRANK, 2008). Esses testes são uma medida mais objetiva e mais sensível do que a avaliação do proprietário, já que mensuram o aprendizado e a memória, em vez de observações clínicas (LANDSBERG, 2005). Todos os testes são conduzidos usando-se alimentos como recompensa, o que os motiva o suficiente para aprender cada tarefa (COTMAN *et al.*, 2002). Os testes padronizados podem claramente demonstrar diferentes níveis de disfunção cognitiva dentre uma população de cães idosos (LANDSBERG, 2005).

Os proprietários de animais idosos deveriam relatar aos veterinários quaisquer mudanças comportamentais assim que estas surgirem. A detecção precoce de alterações cognitivas por meio dos testes permite a intervenção na fase inicial do processo degenerativo, aumentando as chances de a terapia retardar a progressão da doença e melhorar a qualidade de vida (LANDSBERG, 2005; ZICKER, 2005). Quanto mais se sabe sobre a história do paciente e há quanto tempo surgiram os sinais, mais fácil será para o veterinário determinar se o problema é primariamente clínico, comportamental ou uma combinação de ambos (DYER, 2005). Dessa forma, podem-se realizar exames diagnósticos apropriados para determinar a causa desses sinais (LANDSBERG, 2005; ZICKER, 2005).

Cães idosos são excelentes modelos experimentais para estudar o envelhecimento patológico por apresentarem similaridades com determinadas enfermidades cerebrais em humanos (CUMMINGS *et al.*, 1996 a). A

possibilidade de realizar a avaliação cognitiva, testar drogas e apresentar semelhanças histopatológicas em estudos clínicos, farmacológicos, morfológicos e de imagem por RM reforçam ainda mais a utilização do cão como modelo experimental natural da DA (CUMMINGS *et al.*, 1996 a; HEAD *et al.*, 2008).

Cotman *et al.* (2002) relatam as seguintes vantagens no uso de cães para o estudo do envelhecimento cerebral: os cães compartilham de muitas condições ambientais com os humanos, podem desempenhar uma variedade de comportamentos cognitivos complexos, o cérebro de cães idosos mostra muitas mudanças patológicas em comum com humanos e a neuropatologia é significativamente associada com o declínio cognitivo. Os cães têm expectativa de vida moderada, variando de 12 a 20 anos, dependendo da raça. Como são animais domesticados, são de fácil manuseio, estão presentes em abundância, são mais baratos e fáceis de adquirir (CUMMINGS *et al.*, 1996 a).

Os modelos animais utilizados para o estudo da DA são o camundongo transgênico e os primatas não-humanos. Ambos apresentam vantagens e desvantagens. Os camundongos não desenvolvem naturalmente as mesmas lesões neuropatológicas do que os humanos. O modelo do camundongo transgênico produz proteínas mutantes precursoras do β -amiloide, possivelmente responsáveis pela etiologia da DA. Portanto, o declínio cognitivo manifestado é decorrente do acúmulo neural destas proteínas não naturalmente produzidas. Já os primatas não humanos possuem muitas semelhanças de declínio cognitivo e de lesões neuropatológicas com os humanos acometidos pela DA. Porém, estes animais são muito caros, difíceis de adquirir e manter, além de terem uma longa expectativa de vida, o que os torna difíceis de serem utilizados como modelo experimental (ADAMS *et al.*, 2000 a).

Portanto, os objetivos do presente trabalho são: 1) verificar a viabilidade de diferentes testes cognitivos em cães; 2) determinar a duração normal de aprendizagem dos cães adultos hípidos nas tarefas, para posteriormente identificar e monitorar alterações cognitivas em cães idosos; 3) comparar diferentes categorias (sexo, idade, raça, ambiente) e diferentes testes entre si e 4) selecionar um dos testes para sua utilização na rotina clínica como uma

ferramenta que auxilie o diagnóstico e o acompanhamento de cães com demência.

REVISÃO DE LITERATURA

1. Síndrome da disfunção cognitiva

1.1. Etiologia

O termo síndrome da disfunção cognitiva (SDC) é usado na literatura veterinária para descrever a desordem neurodegenerativa progressiva de cães idosos, caracterizada por um declínio da função cognitiva, que tem características em comum com a doença de Alzheimer (DA), causa mais comum de demência em seres humanos (LANDSBERG, 2005; CUMMINGS *et al.*, 1996 b; ROFINA *et al.*, 2006). Cognição refere-se a processos mentais como percepção, consciência, aprendizado, memória e tomada de decisões (FRANK, 2008).

A etiologia da SDC ainda é desconhecida, assim como a da DA. Porém, atualmente, a hipótese mais aceita é a de que a SDC seja uma enfermidade multifatorial, cuja morte neuronal é uma consequência de eventos celulares neuropatológicos interligados, como atrofia cortical, deposição de amiloide, acúmulo de produtos de dano oxidativo, emaranhados neurofibrilares, alterações na mielina e acúmulo de macrófagos (ROFINA *et al.*, 2006). No entanto, não está claro o que desencadeia tais eventos.

Em cães, a disfunção cognitiva se manifesta pela perda de várias funções, como a estabilidade e a flexibilidade comportamental (habilidade de mudar a resposta), o aprendizado e a memória (MILGRAM *et al.*, 2008).

1.2. Diagnóstico

A suspeita clínica da SDC em cães é baseada na identificação de sinais clínicos e na exclusão de outros processos mórbidos que possam causar ou contribuir para o surgimento desses sinais (LANDSBERG, 2005). Dessa forma, deve-se realizar uma anamnese que contemple informações comportamentais, as quais podem ser obtidas pela aplicação de questionários (ROFINA *et al.*,

2006), exame neurológico, hemograma, exames bioquímicos, urinálise, testes cognitivos, exames de neuroimagem e necropsia.

Não há testes diagnósticos específicos para essa condição *in vivo* (CHRISMAN *et al.*, 2003), porém podem-se observar alterações no exame neurológico, nos testes cognitivos e na ressonância magnética (RM). O diagnóstico pode ser confirmado por meio do exame histopatológico do tecido cerebral.

1.2.1. Testes cognitivos: Diferentes testes vêm sendo desenvolvidos para avaliar o aprendizado e os diferentes sistemas de memória em cães (FRANK, 2008), os quais são uma medida mais objetiva e mais sensível que os relatos dos proprietários, já que mensuram o aprendizado e a memória ao invés de observações clínicas. Os testes padronizados podem, claramente, demonstrar diferenças quando comparados cães jovens e cães idosos, assim como diferentes níveis de disfunção cognitiva dentro de uma população de cães idosos. Por meio do uso destas provas, muitos avanços têm sido realizados no entendimento da disfunção cognitiva em animais de companhia e no desenvolvimento de agentes terapêuticos que sejam efetivos no aperfeiçoamento do aprendizado e da memória e no tratamento da SDC em cães idosos (LANDSBERG, 2005).

Os testes cognitivos têm sido usados para atingir três objetivos: identificar mudanças cognitivas não-subjetivas, caracterizar as bases neurobiológicas do declínio cognitivo e determinar possíveis intervenções (HEAD *et al.*, 2008). Eles foram desenvolvidos para avaliar diferentes aspectos da cognição. Embora a nomenclatura não necessariamente se assemelhe com aquela usada na literatura médica, tais testes parecem corresponder com as capacidades baseada no conhecimento (discriminação, aprendizado reverso, reconhecimento do objeto e aprendizado espacial) e na habilidade (abordagem da recompensa e do objeto) (CUMMINGS *et al.*, 1996 b).

As semelhanças de diminuição cognitiva entre humanos e caninos, sugeridas por meio dos testes cognitivos, sugerem processos neurobiológicos comuns entre eles. Estudos das lesões, dos sistemas de neurotransmissores e da neuropatologia estão sendo realizados para melhor avaliar essa hipótese (ADAMS *et al.*, 2000 a).

Os testes cognitivos geralmente são realizados em aparelhos adaptados do *Wisconsin General Test Apparatus* (FOX, 1971). Este é composto por uma câmara de madeira equipada com barras de aço ajustáveis em sua frente. Estas barras se adaptam ao tamanho do animal. Além das barras, encontra-se uma bandeja com três orifícios onde são posicionadas as recompensas. O experimentador é separado do cão por meio de um espelho falso, para evitar contato visual entre ambos. Abaixo do espelho, encontra-se uma porta de madeira articulada, por onde passa a bandeja com os objetos (MILGRAM *et al.*, 1994; ADAMS *et al.*, 2000 b; CHAN *et al.*, 2002; LANDSBERG, 2005; HEAD *et al.*, 1995; HEAD *et al.*, 1998; MILGRAM *et al.*, 2008; SIWAK *et al.*, 2003; TAPP e SIWAK, 2006) (Figura 1).

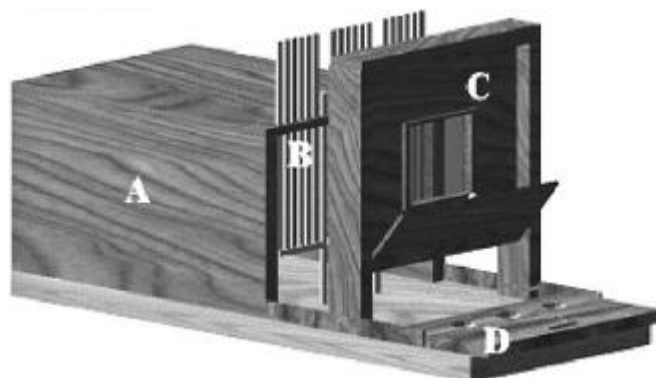


FIGURA 1. Aparelho adaptado do *Wisconsin General Test Apparatus* por Landsberg (2005).

Alguns pesquisadores usaram um protocolo padrão, em que objetos cobrem buracos no piso contendo o alimento da recompensa. A localização correta da recompensa é determinada por um programa de computador para evitar locais viciados (MILGRAM *et al.*, 2008). Todos os testes são conduzidos usando alimento como recompensa, o que os motiva o suficiente para aprender cada tarefa. O uso de protocolos de privação, que são particularmente estressantes para animais idosos, é desnecessário (COTMAN *et al.*, 2002). Os locais que contêm a recompensa são odorizados com o alimento para evitar que os cães usem sugestão olfativa (CUMMINGS *et al.*, 1996 b).

Em geral, os cães realizam 10, 20 ou até 40 tentativas por dia, dependendo da metodologia do estudo empregada. O intervalo entre as tentativas varia de

30 a 90 segundos (MILGRAM *et al.*, 1994; ADAMS *et al.*, 2000 a; CHAN *et al.*, 2002; CUMMINGS *et al.*, 1996 b; HEAD *et al.*, 1995; HEAD *et al.*, 1998; SIWAK *et al.*, 2003).

Normalmente, os cães são julgados como tendo aprendido uma tarefa quando atingem um nível de 90% de acertos, ou um nível de 80% por dois dias consecutivos e então mantêm um nível de 70% ao longo das próximas três sessões (LANDSBERG, 2005).

Os testes de abordagem à recompensa e ao objeto são tarefas que avaliam o aprendizado e a memória procedural. A memória procedural pode ser definida como aquela necessária para a percepção e a aprendizagem de habilidades motoras e cognitivas, manifestando-se em uma ampla série de situações. Ela costuma ser chamada de aprendizagem de habilidades (ADAMS *et al.*, 2000 a; EYSENCK e KEANE, 2007).

No teste de abordagem à recompensa, esta é colocada à esquerda ou à direita. Através de sugestão visual, o animal deve aprender a escolher somente o local que contém a recompensa (CUMMINGS *et al.*, 1996 b).

No teste de abordagem ao objeto, os procedimentos são idênticos ao da abordagem da recompensa, com a diferença de que um objeto cobre o alimento. O propósito desta tarefa é treinar os animais para desprezar objetos (CUMMINGS *et al.*, 1996 b).

Já a discriminação do objeto avalia a aquisição ou retenção da memória semântica, de longo prazo, por meio da qual o animal aprende qual estímulo sempre possui a recompensa durante o processo de aquisição. A memória semântica refere-se ao conhecimento do “significado” das coisas, isto é, a associação entre objetos ou entre resposta e recompensa (ADAMS *et al.*, 2000 a). Em humanos, essa memória contém informações sobre a bagagem de conhecimento sobre o mundo (EYSENCK e KEANE, 2007). Estudos vêm demonstrando que os cães geralmente preservam este tipo de memória durante o envelhecimento (ADAMS *et al.*, 2000 a).

Na discriminação do objeto, o animal deve aprender a abordar um mesmo objeto de dois apresentados para obter a recompensa (LANDSBERG, 2005) e lembrar-se quando o teste é realizado em uma ocasião posterior (MILGRAM *et al.*, 2008). Este teste avalia a habilidade de associar objetos específicos com a

recompensa sob um estímulo positivo (CUMMINGS *et al.*, 1996 b). Os objetos se diferenciam entre si em, ao menos, uma dimensão (por exemplo, tamanho, cor e forma) (MILGRAM *et al.*, 2008). Em um estudo, cães jovens e de meia-idade levaram, respectivamente, no máximo nove e 12 dias para aprender a tarefa (MILGRAM *et al.*, 1994).

Já no aprendizado reverso, o objeto que não foi previamente premiado é agora associado à recompensa (LANDSBERG, 2005). O teste reverso fornece uma medida da flexibilidade cognitiva (MILGRAM *et al.*, 2008). A flexibilidade cognitiva permite aos animais o ajuste de seu comportamento de acordo com as mudanças ambientais, isto é, permite aprender a ligar outro contexto a um novo comportamento (BARTOLO *et al.*, 2009). A memória utiliza uma multiplicidade de mecanismos específicos para reduzir a acessibilidade de material irrelevante em diferentes situações (BÄUML *et al.*, 2010).

Os resultados de um estudo sugerem que os cães são relutantes em desaprender respostas motoras espaciais adquiridas, o que tem implicações importantes para projetos experimentais, treinamento diário do cão e nossa compreensão das suas capacidades mentais (OSTHAUS *et al.*, 2010).

Quando comparados cães jovens a idosos, grandes diferenças são encontradas em favor dos jovens nos testes de discriminação do objeto e aprendizado reverso, indicando que estes são testes sensíveis às alterações cognitivas dependentes da idade (MILGRAM *et al.*, 2008). Os cães jovens e de meia-idade levaram, respectivamente, no máximo 15 e 18 dias para o aprendizado em um estudo (MILGRAM *et al.*, 1994).

Embora o aprendizado reverso dependa da aquisição da discriminação prévia, este é um teste mais complexo, pois exige que o animal extinga uma associação anterior entre um estímulo positivo e a recompensa, e então substituir por outra. Neste contexto, o aprendizado reverso pode ser considerado uma medida de função executiva, isto é, um domínio das habilidades cognitivas que consistem em abstração, estabelecimento e troca de um padrão (ADAMS *et al.*, 2000 a).

Pode ser realizado o teste de retenção da memória após o teste reverso, no qual os cães são testados após um determinado período de tempo por meio dos mesmos procedimentos utilizados durante o treinamento inicial do teste

reverso. O teste de retenção de memória é continuado até os animais alcançarem o critério de aprendizado. A pontuação é calculada subtraindo-se os erros cometidos durante a retenção, dos erros obtidos no teste reverso (HEAD *et al.*, 1998).

Em um estudo, após dois anos do teste reverso, a retenção da memória não variou com a idade, e somente um dos animais obteve pontuação negativa. Dos 17 cães, dois não conseguiram completar o teste devido a alterações como espondilose, e seis cães tiveram ótimo desempenho, alcançando o nível de acertos desejado em dois dias, ou seja, oito a dez acertos em 10 tentativas (HEAD *et al.*, 1998).

O teste de retenção da memória também pode ser realizado com o DNMP (*delay non-matched to position*) a curto (memória semântica) ou longo prazo (memória remota). A memória remota é a memória de manutenção de informações sobre os testes por um extenso período de tempo, além de conhecimentos gerais (ADAMS *et al.*, 2000 a).

Os cães podem ser testados em tarefas que verificam sua habilidade de lembrar-se da localização de uma recompensa após um intervalo de 5 ou mais segundos (atraso não ligado à posição ou DNMP) ou lembrar-se de um objeto sob o qual se encontra a recompensa (atraso não ligado à amostra ou DNMS - *delay non-matched to sample*) (LANDSBERG, 2005). Estas tarefas também são chamadas de teste de aprendizado espacial e teste de reconhecimento do objeto, respectivamente (CUMMINGS *et al.*, 1996 b).

O DNMP é um teste de memória de curto prazo visuoespacial (ADAMS *et al.*, 2000 b) no qual o alimento é colocado sob um objeto da esquerda ou da direita. Após o animal receber a recompensa, o objeto é retirado do campo de visão do animal e um intervalo é iniciado. Após esse período, dois objetos idênticos são colocados em frente ao cão. Ele deve aprender que o alimento encontra-se sob a localização não premiada previamente (LANDSBERG, 2005). Cães idosos possuem deficiência neste tipo de teste, em comparação com os cães jovens, o que demonstra que o aprendizado e a memória espaciais são sensíveis à idade no cão, segundo alguns pesquisadores (ADAMS *et al.*, 2000 b).

Uma vez aprendido o propósito do teste, pode-se aumentar o intervalo para testar a capacidade de memória de longo prazo do cão. O mesmo teste pode ser realizado com três objetos, porém cães idosos requerem muito mais sessões para aprender a tarefa (LANDSBERG, 2005).

O DNMS é um teste de memória de curto prazo de reconhecimento do objeto, ou seja, é um teste de memória visual (ADAMS *et al.*, 2000 a), no qual a recompensa é colocada sob o objeto no centro. Após intervalos de tempo variáveis, no qual o objeto é retirado da vista do animal, o objeto original e um segundo novo objeto são oferecidos em uma localização ao acaso nas laterais. O cão deve aprender que o alimento está sob o novo objeto após um período de 5 ou mais segundos (LANDSBERG, 2005).

Os testes de aprendizado visuoespacial e de reconhecimento do objeto são duas formas de memória prejudicadas pela idade, mas o reconhecimento do objeto é mais difícil para os cães. Portanto, o teste espacial é mais útil para caracterizar as diferenças entre cães idosos (LANDSBERG, 2005).

Em um estudo realizado, somente 4 de 10 animais jovens aprenderam a tarefa com 400 tentativas. Porém, foi obtida uma melhora significativa no desempenho dos animais quando foi alterada a distância para 25 cm durante a apresentação do objeto (ADAMS *et al.*, 2000 a). Alguns autores citam que o desempenho dos animais pôde ser melhorado nos DNMS e no DMNP quando os objetos foram afastados ao menos 30 centímetros entre si (INGRAM e WILLIAMS, 2002).

O teste de curiosidade permite aos cães examinar e brincar com uma variedade de brinquedos para verificar a reação do animal a novos objetos ou o comportamento exploratório. Os cães jovens demonstram significativamente maior exploração e contato com novos objetos. Já os cães com disfunção mostram maiores níveis de locomoção e menor comportamento exploratório. Esse teste pode ser mais fácil de executar, pois requer apenas 10 minutos e não necessita de aparelhos de teste especiais, o que o torna um exame clínico mais útil para animais com disfunção cognitiva. Porém, as mudanças na memória e aprendizado podem preceder as do comportamento exploratório (LANDSBERG, 2005).

No teste de aprendizado do ponto de referência, são apresentados dois objetos idênticos ao cão. Para obter a recompensa do alimento, os animais eram obrigados a responder seletivamente ao objeto mais próximo a um marco referencial específico. Em um estudo, os cães jovens completaram a tarefa mais rapidamente, indicando que este teste é particularmente útil na identificação do comprometimento cognitivo dependente da idade (MILGRAM *et al.*, 2008). Além disso, foi observado que o desempenho dos animais nesse teste diminui à medida que aumenta a distância entre o marco referencial e o objeto mais próximo (TAPP e SIWAK, 2006).

O aprendizado do ponto de referência é uma medida de aprendizado espacial alocêntrico, ou seja, este afere a habilidade de localizar um objeto no espaço. O aprendizado espacial pode ser obtido de duas formas: por referência à posição do observador (sinal egocêntrico) e por referência à posição de um estímulo externo ou um marco referencial (sinal alocêntrico). Os cães são recompensados por abordarem o objeto mais próximo ao marco. A resolução desta tarefa contou com a utilização de pistas espaciais alocêntricas, pois as informações sobre a resposta correta são fornecidas apenas pela localização do marco (ADAMS *et al.*, 2000 a; TAPP e SIWAK, 2006).

Os testes de aprendizado alocêntrico indicam que a discriminação do ponto de referência é muito mais difícil aos cães, tanto os jovens quanto os idosos, do que o DNMP (TAPP e SIWAK, 2006).

No teste de discriminação do objeto diferente, três objetos são apresentados ao animal, sendo dois idênticos e um diferente. Para receber a recompensa, o cão deve abordar o objeto diferente (MILGRAM *et al.*, 2008; TAPP e SIWAK, 2006). Após atingir o critério de aprendizado, o cão pode ser testado com outros três novos testes de discriminação do objeto diferente, onde o objeto diferente se torna progressivamente mais semelhante aos demais (TAPP e SIWAK, 2006). Em um estudo, este teste também foi sensível ao comprometimento cognitivo dependente da idade (MILGRAM *et al.*, 2008). Já em outro trabalho, os cães idosos não apresentaram dificuldade nesta tarefa, apesar de realizarem mais erros à medida que aumentava a dificuldade dos testes. Os animais jovens, de menos de 6 anos, demonstraram rápido

aprendizado nos testes, apesar da crescente semelhança na aparência dos objetos (TAPP e SIWAK, 2006).

Estudos-piloto têm sido conduzidos usando sugestões olfativas em testes de discriminação, o que seria um teste mais relevante para cães (INGRAM e WILLIAMS, 2002).

Alguns autores afirmam que, através da coleta de dados de diferentes testes cognitivos, pode-se desenvolver um perfil para cada cão, o que permite caracterizá-los com base na função cognitiva e, deste modo, auxiliar o estudo de estratégias terapêuticas para melhorar a disfunção cognitiva (ADAMS *et al.*, 2000 a).

Animais que receberam enriquecimento ambiental, como exercícios, novos brinquedos e testes freqüentes também mostravam melhor desempenho em testes de discriminação e de aprendizado reverso. No entanto, observou-se um efeito sinérgico no uso da dieta com o enriquecimento ambiental, promovendo maior melhora cognitiva (ZICKER, 2005). Uma melhora cognitiva em resposta a uma dieta enriquecida com antioxidantes foi observada por meio do teste de memória espacial, discriminação visual e aprendizado reverso (HEAD *et al.*, 2008).

A média de erros cometidos por cães de um estudo apresentou uma grande variação com o avanço da idade, porém as deficiências cognitivas não foram dependentes somente da idade. Essa informação sugere que mudanças neuropatológicas entre cães idosos podem ser mais facilmente detectadas quando se compara animais idosos com SDC com animais jovens ou com animais idosos sem SDC, ao invés de olhar simplesmente para diferenças entre jovens *versus* idosos, sem levar em consideração o estado cognitivo (CUMMINGS *et al.*, 1996 b). Alguns autores afirmam que diferentes funções cognitivas ficam prejudicadas em diferentes taxas nos cães idosos (ADAMS *et al.*, 2000 b).

Em uma pesquisa, os animais idosos demonstraram diminuição da cognição somente em alguns testes, como DNMS, aprendizado reverso e aprendizado espacial (CUMMINGS *et al.*, 1996 a). Há autores que relatam que os cães idosos mantêm intactos os testes de habilidade e discriminação do objeto (HEAD *et al.*, 1998).

Ainda é difícil classificar um cão com SDC baseando-se nos testes neuropsicológicos, pois não foram realizados estudos nos quais foram usados tanto os questionários, quanto os testes cognitivos, no mesmo grupo de cães (HEAD *et al.*, 2008). Testes de comportamento adicionais são necessários para melhor esclarecer a cognição canina (CUMMINGS *et al.*, 1996 b).

1.2.2. Exames de neuroimagem: As imagens de RM de cães com SDC revelam redução do volume cortical, cerebral e cerebelar e hipertrofia dos ventrículos. O tamanho ventricular aumenta com a idade, mas não de maneira linear. É a partir dos 10 anos que o aumento progride mais rapidamente (SU *et al.*, 1998). Essas alterações anatômicas sugerem degeneração neuronal (INGRAM e WILLIAMS, 2002).

1.2.3. Neuropatologia: Uma variedade de mudanças relacionadas à idade têm sido descritas no sistema nervoso de muitas espécies. Essas alterações incluem espessamento e calcificação das meninges, alterações vasculares, neuronais e gliais, degeneração da substância branca, dilatação axonal e inclusões, estreitamento dos giros e aumento dos sulcos, aumento ventricular leve a moderado, fibrose meníngea, do plexo coroide e da parede dos vasos, astrogliose, satelitose, neuronofagia, esferoides na substância cinzenta, acúmulo de lipofuscina e células espumosas em quantidade leve a moderada ao redor dos vasos, entre outras alterações. Quase todos os cães tiveram deposição de amiloide, tanto nas meninges quanto no parênquima, e degeneração neuraxonal. A questão crítica é identificar a neuropatologia que tem o maior impacto funcional no declínio cognitivo (BORRÀS *et al.*, 1999).

A proteína β -amiloide é neurotóxica, induzindo, ao menos em parte, a apoptose neuronal. Há descrições de morte celular apoptótica em pacientes com DA e em cães idosos. Tal perda de neurônios, causada pela deposição de amiloide, tem sido proposta como um dos principais fatores responsáveis pela demência na DA e em cães idosos, e a extensão de tal deposição correlaciona-se à severidade da disfunção cognitiva em caninos (COTMAN *et al.*, 2002; BORRÀS *et al.*, 1999).

Uma grande variedade de alterações relacionadas à idade afeta diversas áreas do sistema nervoso canino, porém a função desses achados na SDC permanece desconhecida e necessita de mais estudos (BORRÀS *et al.*, 1999).

1.3. Tratamento

O cérebro é especialmente vulnerável aos efeitos dos radicais livres porque possui a maior taxa respiratória de todos os tecidos e utiliza 20% do suprimento corporal de oxigênio (DYER, 2005). Danos oxidativos generalizados, excessiva produção de radicais livres e baixos níveis de vitamina E foram identificados nos cérebros de cães com demência (LANDSBERG, 2005).

Nos anos 1980, foi sugerido que certos ingredientes nutricionais poderiam ter um impacto na progressão do envelhecimento e de doenças tanto nos animais como nos seres humanos. Durante os anos 1990, vários trabalhos concluíram que alimentos ricos em antioxidantes poderiam retardar a progressão do declínio neurológico em ratos e em seres humanos (ZICKER, 2005).

Dietas terapêuticas para o tratamento da SDC encontram-se disponíveis na Europa e na América do Norte. Elas contêm vários antioxidantes e cofatores mitocondriais que melhoram as defesas antioxidantes, diminuindo a produção e aumentando a remoção de radicais livres, e reduzindo seus efeitos tóxicos (LANDSBERG, 2005). Possuem vitaminas C e E, ácido DL-alfalipoico, L-carnitina, betacaroteno, selênio, ácidos graxos ômega-3, flavonoides e carotenoides de frutas e vegetais. Uma melhora no desempenho foi vista entre duas e oito semanas após o início da terapia, com diminuição do declínio cognitivo nos cães idosos (LANDSBERG, 2005; COTMAN *et al.*, 2002; ZICKER, 2005).

A vitamina E na dose de 30UI/kg/dia, não excedendo 400UI a cada doze horas, é um antioxidante potente, com efeitos neuroprotetores e prontamente disponível. Extrato de ginkgo biloba entre 2 e 4mg/kg a cada oito a doze horas é uma preparação de ervas que aumenta o fluxo sanguíneo cerebral e também pode ser útil (CHRISMAN *et al.*, 2003).

A selegilina ou L-deprenil é o primeiro agente terapêutico aprovado para uso em cães baseado nos resultados dos testes e em experimentos clínicos (INGRAM e WILLIAMS, 2002). É um inibidor seletivo e irreversível da monoamino-oxidase B (Maob), inibindo a produção de radicais livres (OSELLA *et al.*, 2007). Os mecanismos pelos quais produz melhora ainda não foram claramente entendidos. Ela aumenta a 2-feniletilamina, um neuromodulador

que intensifica a função da dopamina e das catecolaminas, melhorando a transmissão dos impulsos nervosos. A selegilina também possui propriedades neuroprotetoras e pode contribuir para a diminuição da carga de radicais livres no cérebro (LANDSBERG, 2005). O cloridrato de selegilina, usado na dose de 0,5 a 1mg/kg por via oral, uma vez ao dia, pela manhã, pode melhorar o estado mental (CHRISMAN *et al.*, 2003). Muitos proprietários relatam melhora depois de uma a duas semanas de tratamento (FRANK, 2008). Alguns autores advertem que tal composto não deve ser usado concomitantemente com antidepressivos tricíclicos, como clomipramina, amitriptilina e imipramina, ou bloqueadores de recaptção da serotonina, como fluoxetina, já que pode ocorrer toxicose e morte (CHRISMAN *et al.*, 2003).

Outros compostos estão sendo estudados em experimentos clínicos, como propentofilina, nicergolina, adrafanil, modafinil, inibidores da acetilcolinesterase como CP-118,954, fenserina e ácido gama-aminobutírico (Gaba) (LANDSBERG, 2005; FRANK, 2008; STUDZINSKI *et al.*, 2005; INAGAWA *et al.*, 2005).

Outras estratégias de tratamento podem incluir o uso de anti-inflamatórios (como ibuprofeno e talvez carprofeno) e reposição hormonal. O estrógeno pode ter efeito anti-inflamatório e antioxidante, e pode levar a um aumento do fluxo sanguíneo cerebral (LANDSBERG, 2005).

Uma grande variedade de terapias complementares para distúrbios comportamentais tem sido utilizada em animais de companhia, como melatonina, raiz valeriana, florais de Bach, feromônio sintético e suplementos alimentares (LANDSBERG, 2005).

Animais que receberam enriquecimento ambiental, como exercícios, novos brinquedos e testes frequentes, também mostraram melhor desempenho em testes de discriminação e de aprendizado reverso. No entanto, observou-se um efeito sinérgico no uso de dietas ricas em antioxidantes e de enriquecimento ambiental, promovendo maior melhora cognitiva (ZICKER, 2005). O enriquecimento cognitivo pode aliviar parcialmente o desenvolvimento da disfunção cognitiva dependente da idade (MILGRAM *et al.*, 2008). Além disso, o tratamento e o controle de problemas clínicos podem melhorar a qualidade de vida, a cognição e mesmo a longevidade (LANDSBERG, 2005).

Algumas recomendações para proprietários de cães com disfunção cognitiva são citadas na literatura, como a instalação de rampas ou degraus acolchoados, o que proporciona ao cão maior acesso aos locais apropriados para eliminação de fezes e urina, ou ainda o uso de fraldas (FRANK, 2008). A manutenção de uma rotina diária regular e previsível ajuda a reduzir a ansiedade, conserva a orientação espacial, mantém o cão alerta durante as horas do dia e o faz dormir durante a noite. A realização de mudanças graduais no ambiente e na rotina do animal também pode contribuir para a melhor adaptação do animal idoso (LANDSBERG, 2005).

CAPÍTULO 2

28 reverso que no teste de discriminação do objeto e os testes de DNMP e de DNMS
29 apresentaram dificuldade semelhante. Sugere-se o teste de DNMP para ser utilizado
30 na rotina clínica para avaliação de cães com alterações cognitivas por ser sensível e
31 de rápido aprendizado, sendo necessário em média três dias.

32

33 **Palavras-chave:** cognição, neurologia veterinária, síndrome da disfunção
34 cognitiva, testes neuropsicológicos, aprendizado por discriminação, reversão de
35 aprendizagem.

36

37

38 **Proposal for clinical application of cognitive tests to assess memory and**
39 **learning in dogs (*Canis lupus familiaris*)**

40

41 **ABSTRACT**

42 This paper aimed to verify the clinical application viability of cognitive tests in adult
43 healthy dogs. 15 healthy adult dogs were used for the cognitive tests of reward
44 approach learning, object approach learning, object discrimination learning, reversal
45 learning, delay non-matched to position and delay non-matched to sample. There was
46 no significant difference on number of days in performance when compared males with
47 females, dogs younger than four years of age with dogs older than four years, dogs
48 weighing less than 20 kg with dogs weighting more than 20 kg, and still trained dogs in
49 the clinic with trained dogs at home in any of the tests. The tests of delay non-matched
50 to position (DNMP) and delay non-matched to sample (DNMS) showed no significant
51 difference between them. The comparison between object discrimination test and
52 reversal learning showed significant difference. The results showed that sex, age, size
53 and environment of the animal did not significantly influence the learning time in days.
54 Dogs had greater difficulty in reversal learning than in object discrimination test and
55 DNMP and DNMS tests were similarly difficult. DNMP test is suggested to be used for
56 routine clinical evaluation of dogs with cognitive impairments since it is sensitive and
57 quickly learned, requiring on average three days.

58

59 **Keywords:** cognition, veterinary neurology, cognitive dysfunction syndrome,
60 neuropsychological tests, discrimination learning, reversal learning.

61

62

63 2.1. Introdução

64 O envelhecimento representa um complexo processo biológico caracterizado por
65 progressiva modificação de células e tecidos (KIATIPATTANASAKUL *et al.*, 1996).
66 Animais idosos podem mostrar dificuldades de aprendizagem e queda no desempenho
67 de atividades que exigem a memória (ADAMS *et al.*, 2000 a; CHAN *et al.*, 2002;
68 LANDSBERG & RUEHL, 1997; MILGRAM *et al.*, 1994).

69 O termo síndrome da disfunção cognitiva (SDC) é usado na literatura veterinária
70 para descrever a desordem neurodegenerativa progressiva de cães idosos,
71 caracterizada por um declínio da função cognitiva, que tem características em comum
72 com a doença de Alzheimer (DA), forma mais comum de demência em seres humanos
73 (CUMMINGS *et al.*, 1996 b; LANDSBERG, 2005; ROFINA *et al.*, 2006).

74 O início do declínio do aprendizado e da memória pode ser demonstrado em cães
75 já aos sete anos de idade, usando-se testes cognitivos. No entanto, casos clínicos de
76 SDC são raramente identificados até os onze anos ou mais. Em cães treinados para
77 tarefas mais específicas, como guias para deficientes visuais, trabalhos militares,
78 detecção de bombas e provas de agilidade, o declínio cognitivo pode ser detectado
79 mais facilmente e em um estágio mais precoce do processo patológico (LANDSBERG,
80 2005).

81 Os proprietários de animais idosos deveriam relatar aos veterinários quaisquer
82 mudanças comportamentais assim que estas surgirem (LANDSBERG, 2005). Quanto
83 mais se sabe sobre a história do paciente e há quanto tempo surgiram os sinais, mais
84 fácil será para o veterinário determinar se o problema é primariamente clínico,
85 comportamental ou uma combinação de ambos (DYER, 2005). Dessa forma, podem-
86 se realizar exames diagnósticos apropriados para determinar a causa desses sinais. A
87 detecção precoce por meio de testes cognitivos permite a intervenção na fase inicial
88 do processo degenerativo, aumentando as chances de a terapia ao menos retardar a

89 progressão da doença e melhorar a qualidade de vida (LANDSBERG, 2005; ZICKER,
90 2005).

91 Este estudo teve como objetivo verificar a aplicação clínica dos diferentes testes
92 cognitivos a fim de realizar a identificação de animais com alterações cognitivas. Além
93 disso, indicar quais dos testes avaliados podem ser utilizados na rotina neurológica
94 para auxiliar o diagnóstico e o acompanhamento do tratamento de cães com SDC.
95 Outros objetivos do trabalho foram determinar o tempo em dias necessários para o
96 aprendizado dos cães adultos hígidos nas tarefas com o aparelho utilizado e comparar
97 diferentes categorias (sexo, idade, raça, ambiente) e testes entre si.

98

99 **2.2. Materiais e Métodos**

100 **2.2.1. Local da pesquisa:** A pesquisa foi realizada no Serviço de Neurologia
101 Veterinária do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
102 da Unesp, campus de Botucatu-SP, com aprovação do Comitê de Ética na
103 Experimentação Animal da mesma faculdade sob o protocolo nº08/2009-CEEA.

104 **2.2.2. Grupo experimental:** Foi utilizado um grupo experimental composto por 15
105 cães adultos, hígidos e sem alterações comportamentais (Tabela 1). Os animais
106 provinham de casas de proprietários ou do canil do Hospital Veterinário da Faculdade
107 de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp, campus de Botucatu-SP. Os primeiros
108 foram treinados em seu próprio território, enquanto que os últimos no ambulatório do
109 Serviço de Neurologia da mesma instituição.

110 Os animais foram pré-selecionados de acordo com a idade a partir da qual os
111 cães são considerados idosos, baseando-se no peso corporal (GOLDSTON, 1989)
112 (Quadro 1). Os cães tinham idade inferior àquela que se considera idade avançada
113 para o seu porte. No caso dos cães do canil, esses tiveram sua idade estimada por
114 meio da classificação do desgaste dentário (ASCASO, 1999) (Quadro 2).

115

116 **TABELA 1.** Cães selecionados para a execução da pesquisa.

Nome	Sexo	Idade (anos)	Raça	Peso (kg)	Ambiente
Bianca	Fêmea	1	Labrador	30.0	Casa
Boni	Fêmea	2	SRD	15.5	Ambulatório
Branquinha	Fêmea	6	SRD	14.5	Ambulatório
Bruce	Macho	2	Pit bull	35.0	Casa
Cacá	Fêmea	3,5	SRD	19.0	Ambulatório
Jack	Macho	5	Boiadeiro australiano	35.0	Casa
Kate	Fêmea	2	SRD	14.0	Ambulatório
Kiara	Fêmea	3	Schnauzer miniatura	10.0	Casa
Logan	Macho	1,5	Spitz alemão	3.5	Casa
Melanie	Fêmea	5	Fox paulistinha	8.0	Casa
Petrukio	Macho	2	SRD	31.5	Ambulatório
Salsicha	Macho	2	Teckel	6.0	Casa
Tom	Macho	4	SRD	20.0	Ambulatório
Vicky	Fêmea	4	Poodle	12.0	Casa
Zé	Macho	5	SRD	35.5	Ambulatório

117

118 **QUADRO 1.** Idade de cães considerados idosos em relação ao peso corporal
119 (GOLDSTON, 1989).

CATEGORIA	PESO (kg)	IDADES
Pequenos	<9.0	11.48±1.86
Médios	9.1-23.0	10.19±1.56
Grandes	23.1-40.0	8.85±1.38
Gigantes	>40.1	7.46±1.27

120

121

122

123

124

125

126

127 **QUADRO 2.** Idade de cães estimada por meio da classificação do desgaste
128 dentário (ASCASO, 1999).

Idade estimada	Desgaste dentário
5 meses	Todos os incisivos e caninos permanentes erupcionados
1,5 ano	Pinças inferiores desgastadas
2 anos	Médios inferiores desgastados
3,5 anos	Pinças superiores desgastadas
4,5 anos	Médios superiores desgastados
5 anos	Cantos inferiores desgastados
6 anos	Cantos superiores desgastados
7 anos	Pinças inferiores desgastadas até o colo

129

130 Durante a anamnese foi aplicado um questionário aos proprietários (Quadro 3),
131 elaborado para detectar a ausência de alterações comportamentais relacionadas ao
132 envelhecimento.

133 Os animais foram selecionados mediante exame clínico (FEITOSA, 2004), com
134 ênfase no exame neurológico (PLATT e OLBY, 2004) e tiveram material colhido para
135 os seguintes exames laboratoriais:

- 136 - sangue para realização de hemograma e contagem de plaquetas;
- 137 - soro sanguíneo para determinação da atividade da alanina aminotransferase
138 (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama-glutamilttransferase (GGT), proteína total (PT),
139 albumina, globulina, creatinina, uréia;
- 140 - colheita de urina para realização de urinálise.

141 **2.2.3. Aparelho e Testes Cognitivos:** Os animais foram submetidos a um
142 período de habituação ao ambiente de estudo para melhor realização dos testes. O
143 ambiente escolhido era um local reservado, fechado, iluminado e o mais silencioso
144 possível, onde somente tinham acesso os experimentadores. O período de habituação
145 consistiu em dois dias, durante 10 minutos, para exploração da sala, do aparelho e
146 reconhecimento do experimentador. Após este período, foram realizadas sessões com
147 10 tentativas por dia, durante cinco dias na semana.

148	Questionário
149	1. O seu animal apresenta alguma doença atualmente?
150	<input type="checkbox"/> N
151	<input type="checkbox"/> S → O seu animal recebe algum tratamento para essa (s) doença (s)? <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
152	2. A atividade física do seu animal sofreu mudança? <input type="checkbox"/> Aumentou <input type="checkbox"/> Diminuiu <input type="checkbox"/> Não sofreu
153	mudança
154	3. O seu animal tem dificuldade de visão? <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
155	4. O seu animal tem audição diminuída? <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
156	5. O seu animal urina em locais não habituais? <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
157	6. O seu animal defeca em locais não habituais? <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
158	7. O seu animal se esconde atrás de móveis? <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
159	8. Quando você retorna à residência o seu animal demonstra alegria? <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
160	9. O seu animal tem se isolado de pessoas e outros animais? <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
161	10. O seu animal está agressivo? <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
162	11. O seu animal demonstra dificuldade em aprender novas tarefas? <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
163	12. O seu animal atende quando é chamado dentro de casa? <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
164	13. O seu animal costuma vagar pela residência esquecendo caminhos? (como
165	exemplo deste item: esquecer como voltar do quintal para dentro de casa). <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
166	14. O seu animal demonstra dificuldade em reconhecer pessoas que lhe são familiares? <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N
167	15. O tempo em que o seu animal passa dormindo sofreu mudança?
168	<input type="checkbox"/> Aumentou <input type="checkbox"/> Diminuiu <input type="checkbox"/> Não sofreu mudança
169	16. O seu animal apresenta dificuldade para dormir?
170	<input type="checkbox"/> N
171	<input type="checkbox"/> S → De que forma (s) o seu animal tem demonstrado dificuldade para dormir?
172	<input type="checkbox"/> Coceira <input type="checkbox"/> Hiperatividade/ agitação <input type="checkbox"/> Dor
173	<input type="checkbox"/> Tosse <input type="checkbox"/> Latidos/ uivos/ choro em excesso
174	<input type="checkbox"/> Outras. Especifique: _____
175	17. O seu animal apresenta algum medo que não tinha antes?
176	<input type="checkbox"/> N
177	<input type="checkbox"/> S → O seu animal tem medo do quê?
178	<input type="checkbox"/> De pessoas conhecidas e/ ou desconhecidas <input type="checkbox"/> De outros animais
179	<input type="checkbox"/> De barulhos (fogos de artifício, veículos automotores, trovão, chuva)
180	<input type="checkbox"/> Outros. Especifique: _____
181	18. O seu animal tem apresentado alterações de comportamento?
182	<input type="checkbox"/> N
183	<input type="checkbox"/> S → Qual (is) dessas alterações o animal apresenta?
184	<input type="checkbox"/> Latido para o nada e/ ou objetos <input type="checkbox"/> Latidos/ uivos/ choro em excesso
185	<input type="checkbox"/> Escava constantemente <input type="checkbox"/> Caça moscas imaginárias
186	<input type="checkbox"/> Mastigação de objetos <input type="checkbox"/> Lambedura
187	<input type="checkbox"/> Outras. Especifique: _____

188 **QUADRO 3.** Questionário aplicado para comprovação da ausência de alterações
 189 comportamentais associadas ao envelhecimento.

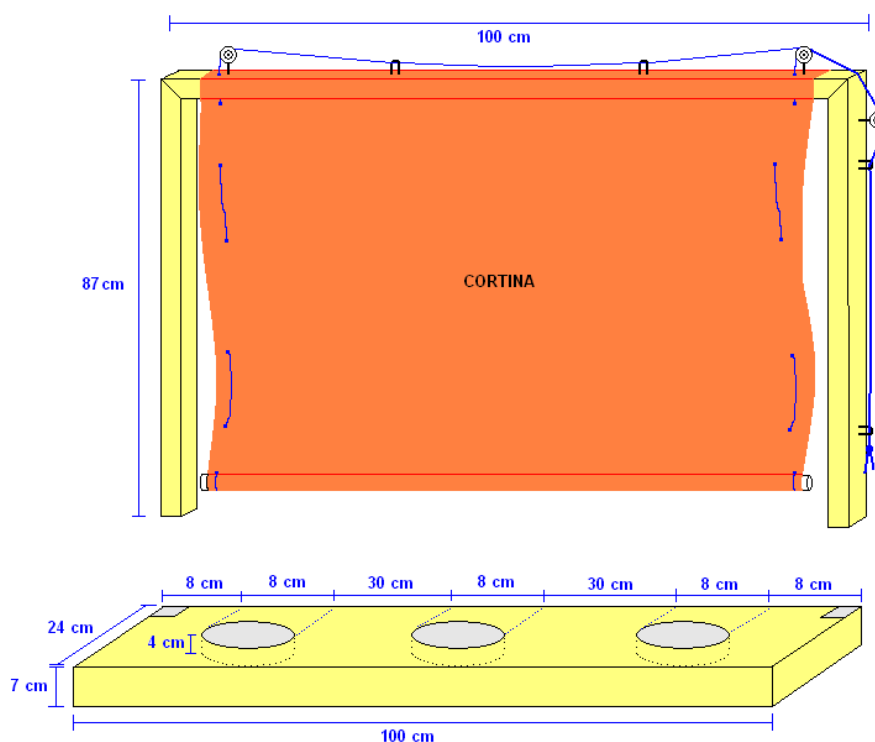
190

191 Foram realizados os testes de abordagem à recompensa, abordagem ao objeto,
 192 discriminação do objeto, aprendizado reverso, *delay non-matched to position* (DNMP)

193 e *delay non-matched to sample* (DNMS), segundo Cummings *et al.* (1996 b), Head *et*
 194 *al.* (1998), Landsberg (2005) e Milgram *et al.* (1994) para avaliação cognitiva.

195 Os testes foram realizados por meio de adaptação do *Wisconsin General Test*
 196 *Apparatus* (MILGRAM *et al.*, 1994) (Figura 2), em um aparelho com dimensões de
 197 87x24x100cm, composto por uma base com três orifícios para posicionamento da
 198 recompensa e dos objetos, e uma armação com uma cortina em lona para evitar
 199 contato visual do cão durante a preparação dos testes. Esta cortina era elevada por
 200 um sistema de roldanas para o animal responder ao teste. Os orifícios eram
 201 odorizados, os objetos eram colocados o mais silenciosamente possível e o aparelho
 202 posicionado a 60 cm de distância do cão. Os animais foram educados a abordar o
 203 estrado sempre que colocada recompensa em um dos orifícios laterais (esquerdo ou
 204 direito).

205



206

207 **FIGURA 2.** Aparelho utilizado no estudo, adaptado do *Wisconsin General Test*
 208 *Apparatus* (MILGRAM *et al.*, 1994).

209

210 A recompensa oferecida foi uma pequena porção de petisco à base de carne,
211 sendo que os objetos foram odorizados para evitar sugestão olfativa e posicionados
212 aleatoriamente, usando-se sorteio.

213 No aparelho, foram posicionadas as recompensas, sob os devidos objetos para
214 cada tipo de teste, com exceção do teste de abordagem à recompensa. Os objetos
215 eram posicionados o mais silenciosamente possível para evitar sugestão sonora. Para
216 discriminação do objeto, aprendizado reverso, DNMS e DMNP foi utilizada uma
217 armação com cortina para separar o animal das amostras, a fim de evitar o contato
218 visual.

219 *Teste de abordagem à recompensa:* a recompensa foi colocada no interior de um
220 dos orifícios, porém mimetizando-se colocar nos dois orifícios laterais. O lado que
221 primeiro era realizada a mímica foi determinado por sorteio. O animal deveria abordar
222 somente o local que contém a recompensa para ser considerado um acerto (Figura 3).

223



224

225

FIGURA 3. Teste de abordagem à recompensa.

226

227 *Teste de abordagem ao objeto:* um objeto foi posicionado sobre o alimento, sem
228 contato visual do cão com o objeto. Para sua realização, os animais tiveram um dia de
229 habituação durante 10 minutos, sendo divididos cinco minutos para o aprendizado do
230 objeto cobrindo parcialmente a recompensa e cinco minutos cobrindo totalmente, e

231 ainda utilizando a cortina. O animal deveria abordar somente o local que contém o
232 objeto para ser considerado um acerto (Figura 4).

233



234

235

FIGURA 4. Teste de abordagem ao objeto.

236

237 *Teste de discriminação do objeto:* na discriminação do objeto, dois objetos (cores
238 azul e laranja) foram posicionados aleatoriamente e o animal deveria aprender a
239 abordar um (azul) dos dois objetos apresentados para obter a recompensa (Figura 5).

240



241

242

FIGURA 5. Teste de discriminação do objeto.

243

244 *Teste de aprendizado reverso:* no aprendizado reverso, o objeto que não foi
245 previamente premiado na discriminação do objeto (laranja) era agora associado à
246 recompensa (Figura 6).

247



248

249

FIGURA 6. Teste de aprendizado reverso.

250

251 *Teste de atraso não ligado à posição ou DMNP (delay non-matched to position):* o
252 alimento era colocado dentro do orifício da esquerda ou da direita. Após o animal
253 receber a recompensa, o objeto era retirado do campo de visão do animal, por meio do
254 posicionamento da armação de lona, e um atraso de 10 segundos era iniciado. Após o
255 período, dois objetos idênticos eram colocados em frente ao cão e este deveria
256 encontrar o alimento na localização não premiada previamente. Foi considerado como
257 acerto caso o animal abordasse o objeto correto (Figura 7).

258 *Teste de atraso não ligado à amostra ou DMNS (delay non-matched to sample):* a
259 recompensa foi colocada dentro do orifício do centro. Após um atraso de 10 segundos,
260 no qual o objeto era retirado da vista do animal, o objeto original e um segundo novo
261 objeto eram oferecidos em uma localização ao acaso nas laterais e o cão deveria
262 localizar o alimento sob o novo objeto, o que era considerado como acerto (Figura 8).

263



264
265
266

FIGURA 7. Teste de atraso não ligado à posição.



267
268
269

FIGURA 8. Teste de atraso não ligado à amostra.

270 Para todos os testes, o intervalo entre as sessões era de 1 minuto e 30 segundos.
271 Para todos os testes, exceto a abordagem à recompensa e o DNMP, foram utilizados
272 objetos distintos em tamanho, forma e cor.

273 Foi considerado atingido o objetivo do teste quando o animal realizava nove
274 acertos entre 10 tentativas durante um dia (90%), ou oito acertos entre 10 tentativas
275 durante dois dias consecutivos (80%).

276 **2.2.4. Análise dos resultados:** Os resultados foram analisados por estatística
277 descritiva, e ainda submetidos ao teste t-pareado (quando comparados os testes de
278 discriminação do objeto *versus* aprendizado reverso e DNMP *versus* DNMS), ao teste t

279 para comparações paramétricas e ao teste de Mann-Whitney quando não-
280 paramétricas (comparações entre os parâmetros de sexo, faixas etárias, porte e
281 ambiente) quanto ao número de dias pelo Pacote Estatístico Minitab®.

282 Para a estatística descritiva, foram determinados quantos erros e quantos dias os
283 cães demoraram a atingir o objetivo em todos os testes.

284 Dentro do grupo de 15 animais, foram comparados cães machos com fêmeas,
285 cães de idade inferior a quatro anos com cães de idade igual ou superior a quatro
286 anos, cães de peso inferior a 20 kg com cães de peso igual ou superior a 20 kg, e
287 ainda cães treinados no ambulatório com cães treinados em sua própria casa. Essas
288 análises foram aplicadas a todos os testes cognitivos realizados em relação ao
289 número de dias dispendidos.

290 Além desses, foram comparados alguns testes entre si, como o teste de
291 discriminação do objeto com o teste de aprendizado reverso e o teste de DNMP com o
292 teste de DNMS.

293 Foram realizados três dos seis testes (abordagem à recompensa, abordagem ao
294 objeto e discriminação do objeto) com mais quatro animais, porém agora sem o
295 contato visual do cão com o experimentador, e sem a presença do
296 proprietário/acompanhante. Foi adaptada uma cobertura de lona no aparelho, entre o
297 animal e o experimentador, além de um sistema de roldanas para o experimentador
298 guiar o animal, mesmo atrás do aparelho.

299 Todos os testes foram analisados com 5% de significância ($p < 0.05$).

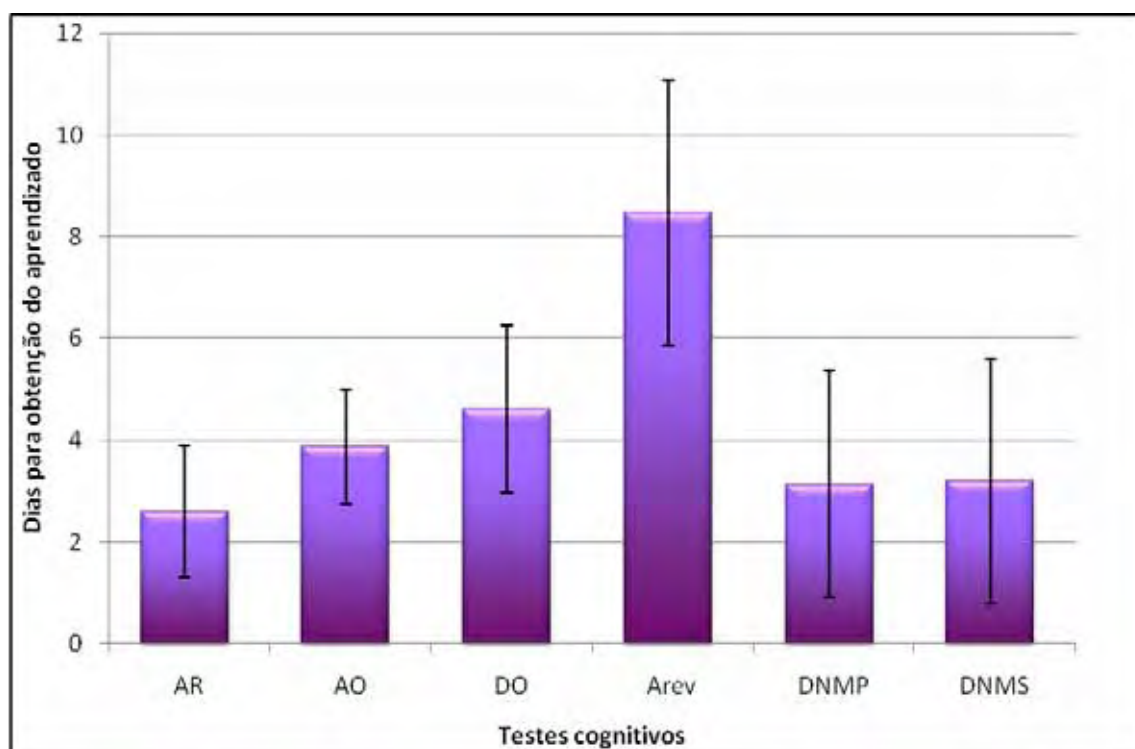
300

301 **2.3. Resultados**

302 As médias de dias necessários para obtenção do objetivo nos testes foram de
303 2.60 ± 1.30 para a abordagem à recompensa, 3.87 ± 1.12 para a abordagem ao objeto,
304 4.60 ± 1.64 para a discriminação do objeto, 8.47 ± 2.61 para o aprendizado reverso,

305 3.13±2.23 para o atraso não ligado à posição e de 3.20±2.40 para o atraso não ligado
306 à amostra (Figura 9).

307



308
309

310 **FIGURA 9.** Médias e desvios-padrão de dias dispendidos nos testes cognitivos para
311 obtenção do objetivo (n=15). (AR – Abordagem à recompensa; AO – Abordagem ao
312 objeto; DO – Discriminação do objeto; Arev – Aprendizado reverso; DNMP – Atraso
313 não ligado à posição; DNMS – Atraso não ligado à amostra)

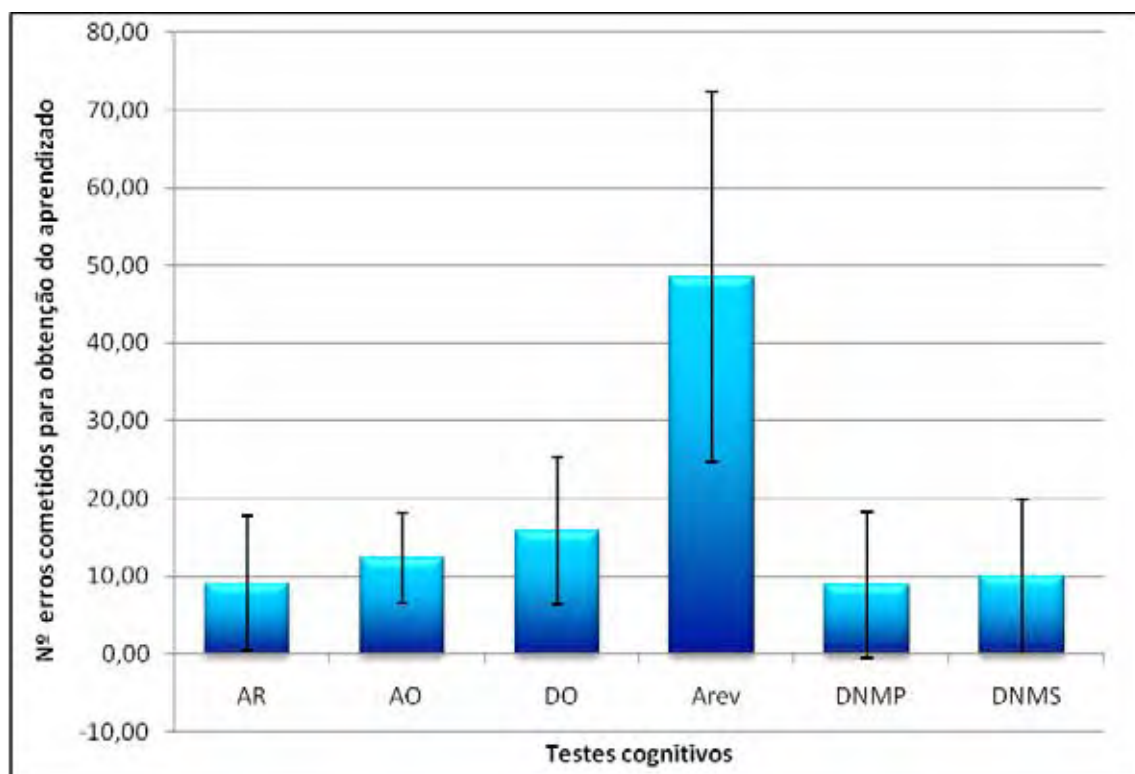
314

315 Já as médias de erros foram de 9.13±8.68 para a abordagem à recompensa,
316 12.33±5.71 para a abordagem ao objeto, 15.87±9.47 para a discriminação do objeto,
317 48.53±23.83 para o aprendizado reverso, 8.93±9.38 para o atraso não ligado à
318 posição e de 10±9.88 para o atraso não ligado à amostra (Figura 10).

319 Não houve diferença significativa no desempenho dos testes quanto ao número
320 de dias quando comparados machos com fêmeas, cães de idade inferior a quatro anos
321 com cães de idade igual ou superior a quatro anos, cães de peso inferior a 20 kg com
322 cães de peso igual ou superior a 20 kg, e cães testados no ambulatório com aqueles
323 testados em sua própria casa (Tabela 2).

324 Os testes de DNMP com DNMS, quando comparados entre si, também não
325 apresentaram diferença significativa ($p=0.944$). Já a análise de comparação dos testes
326 de discriminação do objeto com o aprendizado reverso apresentou diferença
327 significativa ($p\leq 0.001$).

328



329
330
331
332
333
334
335

FIGURA 10. Médias e desvios-padrão de erros cometidos nos testes cognitivos até a obtenção do objetivo ($n=15$). (AR – Abordagem à recompensa; AO – Abordagem ao objeto; DO – Discriminação do objeto; Arev – Aprendizado reverso; DNMP – Atraso não ligado à posição; DNMS – Atraso não ligado à amostra)

336 **TABELA 2.** Média e desvio padrão das categorias segundo os tipos de testes
337 cognitivos

Categoria	Grupo	Teste cognitivo					
		AR	AO	DO	ARev	DNMP	DNMS
Sexo	Fêmeas	2.87±1.36	4.12±1.13	4.62±1.51	8.25±1.67	3.12±1.88	2.62±1.06
	Machos	2.29±1.25	3.57±1.14	4.57±1.90	8.71±3.55	3.14±2.73	3.86±3.34
Valor P		P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05
Idade	< 4 anos	2.11±1.17	3.67±1.12	4.67±1.50	7.78±2.22	2.89±2.42	3.78±2.68
	≥ 4 anos	3.33±1.21	4.17±1.17	4.50±1.97	9.50±3.02	3.50±2.07	2.33±1.75
Valor P		P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05
Peso	< 20 kg	2.67±1.41	4.11±1.27	4.33±1.66	8.00±1.73	2.44±1.51	2.89±1.54
	≥ 20 kg	2.50±1.22	3.50±0.84	5.00±1.67	9.17±3.66	4.17±2.86	3.67±3.44
Valor P		P>0.05	P>0.05	P>0,5	P>0.05	P>0.05	P>0.05
Ambiente	Amb.	2.71±1.38	4.00±1.00	5.29±1.38	8.71±3.04	3.14±2.73	3.00±1.41
	Casa	2.50±1.31	3.75±1.28	4.00±1.69	8.25±2.37	3.12±1.88	3.37±3.11
Valor P		P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05

338 AR – Abordagem à recompensa; AO – Abordagem ao objeto; DO – Discriminação
339 do objeto; ARev – Apredizado reverso; DNMP – Atraso não ligado à posição; DNMS –
340 Atraso não ligado à amostra; Amb. – ambulatório

341

342 Foi verificado que não existiu diferença significativa em nenhum dos testes sem
343 contato visual com os experimentadores, tanto quanto ao número de dias (Tabela 3),
344 quanto ao número de erros cometidos ($p>0,05$) (Tabela 4).

345

346

347

348

349 **TABELA 3.** Média e desvio padrão dos dias de testes cognitivos realizados com e
350 sem contato visual com o experimentador e acompanhante

	Abordagem à recompensa	Abordagem ao objeto	Discriminação do objeto
Contato Visual	2.60±1.30	3.87±1.12	4.60±1.64
Sem contato	1,75±1,50	3,00±1,41	6,33±1,15
Valor P	P>0,05	P>0,05	P>0,05

351

352 **TABELA 4.** Média e desvio padrão dos erros cometidos nos testes cognitivos
353 realizados com e sem contato visual com o experimentador e acompanhante

	Abordagem à recompensa	Abordagem ao objeto	Discriminação do objeto
Contato Visual	9.13±8.68	12.33±0.46	15.87±0.60
Sem contato	3,50±5,69	8,50±5,45	23,33±3,79
Valor P	P>0,05	P>0,05	P>0,05

354

355 **2.4. Discussão**

356 Os testes cognitivos podem ser ferramentas úteis para avaliação e triagem de
357 animais que apresentam alterações cognitivas compatíveis com a SDC, já que, de
358 acordo com Landsberg (2005), eles mensuram o aprendizado e a memória desses
359 cães, sendo assim uma medida mais objetiva e sensível do que apenas o relato do
360 proprietário, podendo demonstrar diferenças quando comparados cães jovens e cães
361 idosos (ADAMS *et al.*, 2000 b; CHAN *et al.*, 2002; CHRISTIE *et al.*, 2005; CUMMINGS
362 *et al.*, 1996 a, 1996 b; HEAD *et al.*, 1998; MILGRAM *et al.*, 1994, 2002, 2008; TAPP *et*
363 *al.*, 2003 a, 2003 b, 2004), assim como diferentes níveis de disfunção cognitiva dentro
364 de uma população de cães idosos. Dessa forma, o estudo teve o objetivo de verificar a
365 viabilidade dos diferentes testes cognitivos na prática clínica, além de determinar o
366 tempo em dias necessários para o aprendizado dos cães adultos hígidos nas tarefas.
367 Outro objetivo do trabalho foi selecionar um dos testes para utilização na rotina clínica
368 e auxiliar no diagnóstico e tratamento de cães com demência.

369 As vantagens da avaliação cognitiva por meio desses testes é de ser um método
370 mensurável/quantitativo, que avalia diferentes tipos de memória. Além disso, é um
371 método não-invasivo, os animais se adaptam facilmente, são altamente motivados à
372 realização dos testes já que recebem recompensa e não permanecem confinados
373 durante os mesmos, ou seja, proporciona o bem-estar dos animais. Outra vantagem é
374 que pode ser realizado na casa do proprietário, no próprio ambiente ao qual o cão está
375 habituado, pois segundo Miklósi (2007), os cães devem ser observados sob condições
376 que lhes são naturais.

377 Existem também algumas limitações na realização desse método. Eles exigem
378 pessoal treinado e aparelhos específicos para sua execução. Ainda, os testes não
379 podem ser realizados com qualquer animal, já que os cães muito agitados ou muito
380 submissos dificultam sua execução, os primeiros devido à dispersão de atenção e os
381 segundos devido ao medo excessivo. Por esse motivo, dois cães pré-selecionados
382 não participaram do estudo (medo excessivo). Outra desvantagem é o tempo
383 dispendido para obtenção do objetivo, ou seja, não pode ser realizado em uma única
384 sessão.

385 Os tipos de testes cognitivos utilizados em estudos, bem como sua metodologia,
386 variam enormemente na literatura. Em geral, são avaliados pelo número de erros
387 cometidos (ADAMS *et al.*, 2000 b; BOUTET *et al.*, 2005; CALLAHAN *et al.*, 2000;
388 CHAN *et al.*, 2002; CUMMINGS *et al.*, 1996 b; HEAD *et al.*, 1995, 1998; MILGRAM *et*
389 *al.*, 1994, 1999, 2008; NIPPAK *et al.*, 2007; STUDZINSKI *et al.*, 2005; TAPP *et al.*,
390 2003 a, 2003 b, 2004) e/ou de tentativas realizadas (BOUTET *et al.*, 2005; CALLAHAN
391 *et al.*, 2000; TAPP *et al.*, 2003 a, 2003 b) nas diversas tarefas. Geralmente, são
392 comparados grupos de diferentes tratamentos ou faixas etárias. Dessa forma, são
393 poucos os trabalhos publicados com metodologia semelhante que possibilitam
394 confrontar com os resultados do presente estudo.

395 Como indicador quantitativo de aprendizagem, sugerimos utilizar o tempo
396 necessário (em número de dias) aos cães para obtenção do objetivo, o que permite
397 fácil interpretação dos resultados.

398 Já o número de erros foi mensurado para facilitar a comparação com os dados
399 relatados na literatura.

400 No estudo de Milgram *et al.* (1994), os cães adultos levaram uma média de 4.1
401 dias e cometeram 10.6 erros em média na abordagem à recompensa, o que difere do
402 presente estudo quanto ao número de dias, sendo uma vez e meia maior (2.6 dias no
403 presente experimento), porém é semelhante aos 9.13 erros encontrados.

404 Na abordagem ao objeto, 1.4 dias e 2 erros em média foram necessários no
405 mesmo estudo, diferindo grandemente do presente estudo, que detectou 3.87 dias e
406 12.33 erros em média.

407 Na discriminação do objeto, foram registradas médias de 4.9 (MILGRAM *et al.*,
408 1994), e aproximadamente 7 e 8 dias (BOUTET *et al.*, 2005; TAPP *et al.*, 2003 a),
409 mais do que encontrado no presente trabalho (4.6 dias). Head *et al.* (1998) registrou
410 em torno de 8 erros no teste de discriminação do objeto, menos que Milgram *et al.*
411 (1994) (16.5 erros), Tapp *et al.* (2003 a) (em torno de 18 erros) e o presente estudo
412 (15.87 erros).

413 O aprendizado reverso apresentou pouca variação entre os estudos, sendo
414 médias de 8.5 dias (MILGRAM *et al.*, 1994), e em torno de 11 dias (BOUTET *et al.*,
415 2005; TAPP *et al.*, 2003 a), semelhante à média de 8.47 dias encontrada. Já os erros
416 tiveram médias de 49.1 (MILGRAM *et al.*, 1994), em torno de 50 (TAPP *et al.*, 2003 a),
417 em torno de 60 (MILGRAM *et al.*, 2008) e 48.53 (presente trabalho).

418 O teste de DNMP somente foi aferido em número de erros por alguns autores,
419 sendo encontrados os valores de aproximadamente 35 (ADAMS *et al.*, 2000 b), 50
420 (HEAD *et al.*, 1995) e 90 (STUDZINSKI *et al.*, 2006), em contraste com 8.93 no
421 presente estudo, apesar da metodologia semelhante. Outros estudos (CHAN *et al.*,

422 2002; HEAD *et al.*, 1995; TAPP *et al.*, 2003 b) verificaram aumento na dificuldade
423 proporcional ao aumento no período do atraso.

424 No teste de DNMS, o atraso de 10 segundos foi estabelecido de acordo com o
425 estudo de Milgram *et al.* (1994). Callahan *et al.* (2000) verificou que pequenos
426 períodos de atraso (5 segundos) tornava o teste mais difícil aos cães, enquanto que
427 em períodos maiores (de 20 e 30 segundos) os cães aprendiam mais rapidamente.
428 Um dos fatores que foi considerado favorável ao aprendizado foi o aumento do tempo,
429 devido ao maior tempo para processamento da informação. Com um atraso de 10
430 segundos, Milgram *et al.* (1994) registrou 28.1 dias e 121 erros nesse teste, enquanto
431 que Callahan *et al.* (2000), em torno de 100 erros. Porém, esse último incluiu cães
432 idosos e com 20 tentativas por dia, o que torna a comparação duvidosa e pode ter
433 influência no maior número de erros e de dias. O presente estudo contrasta com tais
434 valores, já que foram necessários 3.20 dias e 10 erros, em média. Esse resultado
435 pode ser devido ao aprendizado prévio em outros tipos de testes, que forneceu ao cão
436 um maior treinamento.

437 Essas diferenças encontradas podem estar relacionadas a diferentes
438 metodologias empregadas, por exemplo em relação ao aparelho utilizado, embora
439 outros estudos também tenham realizado sua adaptação, como Boutet *et al.* (2005) e
440 Landsberg (2005). Outro fator que pode ter influenciado é que no presente estudo os
441 cães tiveram contato com o examinador e o acompanhante, ao contrário dos demais
442 estudos, o que leva em consideração o efeito Hans esperto. Esse contato foi utilizado
443 para facilitar a aplicação clínica e a aceitação do proprietário em realizar os testes,
444 além de levar em conta o bem-estar dos animais e sua rápida adaptação, método esse
445 que apresenta vantagens em relação ao confinamento.

446 O efeito do Hans esperto é um fenômeno pelo qual os cães realizam a leitura de
447 gestos e dicas inconscientes dos seres humanos e utilizam esses sinais em tarefas de
448 resolução de problemas (como os testes cognitivos), aumentando assim seu

449 desempenho. Portanto, esse processo deve ser eliminado porque ele interfere no
450 objetivo do experimento, onde o comportamento do cão deve ser controlado somente
451 pelo estímulo gerado pelo experimentador (MIKLÓSI, 2007).

452 A presença do proprietário pode ter efeitos na resposta dos animais. Por esta
453 razão, existem autores que observam os animais em presença dos donos e outros
454 evitam esses contatos (MIKLÓSI, 2007). Segundo o autor, ambos os métodos
455 apresentam problemas. Se o proprietário estiver presente, o cão irá considerar o teste
456 como sendo social, e tentará utilizar alguns meios de interação com o ser humano.
457 Isso significa que pode ser difícil separar o desempenho do cão do desempenho do
458 conjunto (cão mais proprietário). No presente estudo, percebeu-se que um animal
459 tentava interagir intensamente com seu dono, embora tenha realizado todos os testes,
460 inclusive com bom desempenho em alguns deles. Por outro lado, a presença do dono
461 pode deixar o cão mais confiante, assim mantendo o nível de desempenho até mesmo
462 em um local estranho (assim como crianças são testadas na presença dos pais). Ao
463 contrário, a ausência do dono pode gerar um estado de medo que interfere no
464 desempenho. Nesse caso o cão deve ser habituado ao ambiente e socializado com o
465 experimentador antes das observações.

466 Embora Zicker (2005) tenha citado que animais que recebem enriquecimento
467 ambiental, como exercícios, novos brinquedos e testes frequentes mostram melhor
468 desempenho em testes de discriminação e de aprendizado reverso, essa diferença
469 entre cães de canil e cães que vivem em casas de proprietários não tiveram diferenças
470 significativas quanto ao número de dias em nenhum dos testes realizados. Já Milgram
471 *et al.* (1994) detectou diferença significativa entre cães de ambientes diferentes.

472 Com essa análise, também podemos comparar cães de raça pura com cães sem
473 raça definida (SRD). Nesse estudo, estão representados cães das raças boiadeiro
474 australiano, fox paulistinha, labrador, pit bull, poodle, schnauzer miniatura, spitz
475 alemão e teckel como os cães das casas, e os cães SRD como os cães do canil.

476 Cummings *et al.* (1996 b) detectaram diferenças no desempenho de alguns testes
477 entre beagles e cães SRD idosos, mas enfatizou que essa diferença pode ser devida
478 ao acúmulo β -amiloide, e não necessariamente à raça. Milgram *et al.* (1994) também
479 verificaram diferença entre esses animais, porém esses poderiam ter influência
480 ambiental, já que permaneciam em locais diferentes.

481 Da mesma forma, os testes com cães do canil e com os cães das casas foram
482 realizados em diferentes horários do dia, sendo os cães do canil durante o dia, e os
483 cães das casas durante o início da noite (por disponibilidade de horários dos
484 proprietários). Segundo Beaver (2001), os padrões de sono dos cães adultos variam
485 devido a ciclos de luz/escuridão, atividades circundantes e familiaridade dos arredores.
486 Em ciclos de luz/escuridão de 12 horas, os cães em laboratório possuem um período
487 de sono máximo das 21:00 às 4:00 h. O estado de alerta diminui gradualmente na
488 primeira hora após as luzes se apagarem, e um aumento gradual começa em
489 aproximadamente uma hora antes das luzes se acenderem novamente. Miklósi (2007)
490 também cita que os cães, assim como os lobos, são ativos ao longo do dia, embora o
491 pico da atividade seja ao amanhecer e ao entardecer.

492 Prato-Previde *et al.* (2008) afirma que existe um consenso de que a motivação por
493 alimento aumenta com a idade, embora ainda não haja comprovação científica para
494 esta afirmativa. Por isso, também foram comparados cães adultos com mais e com
495 menos idade, porém dentro da faixa etária dos adultos para verificar se haveria
496 diferença estatística, porém essa não foi encontrada. Em geral, os trabalhos somente
497 comparam diferentes faixas etárias (ADAMS *et al.*, 2000 b; BOUTET *et al.*, 2005;
498 CALLAHAN *et al.*, 2000; CHAN *et al.*, 2002; CHRISTIE *et al.*, 2005; CUMMINGS *et al.*,
499 1996 b; HEAD *et al.*, 1995, 1996, 1998; MILGRAM *et al.*, 1994, 2002, 2008; NIPPAK
500 *et al.*, 2007; TAPP *et al.*, 2003 a, 2003 b, 2004).

501 Alguns trabalhos também comparam diferentes tratamentos (HEAD *et al.*, 1996;
502 MILGRAM *et al.*, 2002, 2008; NIPPAK *et al.*, 2007; STUDZINSKI *et al.*, 2005).

503 Pompili *et al.* (2010) afirmam que os hormônios ovarianos podem influenciar na
504 expressão de vários tipos de comportamentos, inclusive o aprendizado e a memória.
505 Muitos estudos demonstram que o estradiol pode influenciar no desempenho de
506 tarefas de aprendizado e memória, tanto em modelos animais, como em seres
507 humanos. Não foi encontrada diferença estatística entre machos e fêmeas no presente
508 estudo quando se comparou o número de dias que os animais demoraram para atingir
509 o objetivo. No estudo de Prato-Previde *et al.* (2008), as fêmeas desempenharam
510 melhor os testes propostos do que os machos.

511 O porte dos animais também não teve influência significativa no desempenho,
512 porém não foi encontrado nenhum trabalho na literatura consultada que tenha
513 comparado os diferentes tamanhos de cães nos testes cognitivos.

514 Além das características dos animais, também foram comparados alguns testes
515 entre si, como a discriminação do objeto com aprendizado reverso, e DNMP com
516 DNMS. Os testes de abordagem à recompensa e ao objeto não foram comparados
517 entre si, pois em muitos trabalhos são considerados como pré-treinamento e não são
518 nem mesmo mensurados (ADAMS *et al.*, 2000 b; CALLAHAN *et al.*, 2000; CHAN *et*
519 *al.*, 2002; CUMMINGS *et al.*, 1996 b; HEAD *et al.*, 1998; MILGRAM *et al.*, 1994, 2002;
520 NIPPAK *et al.*, 2007; NIPPAK e MILGRAM, 2005; STUDZINSKI *et al.*, 2006; TAPP *et*
521 *al.*, 2003 a).

522 O teste de discriminação do objeto foi comparado ao aprendizado reverso, por
523 serem testes com mesma metodologia, porém o estímulo positivo oposto ao outro.
524 Dessa forma, a discriminação do objeto foi significativamente mais fácil aos cães para
525 executarem do que o aprendizado reverso, já que este último é uma medida de
526 flexibilidade cognitiva (MILGRAM *et al.*, 2008) e exige que o animal mude uma
527 resposta já aprendida (CHAN *et al.*, 2002), o que é mais difícil aos cães pois eles são
528 relutantes em desaprender respostas motoras espaciais adquiridas (OSTHAUS *et al.*,
529 2010). Esse dado concorda com os resultados encontrados por Milgram *et al.* (1994),

530 o qual também verificou que o aprendizado reverso foi mais difícil aos cães, tendo em
531 torno do dobro de dificuldade que a discriminação do objeto. Nos primeiros dias, os
532 animais cometem muitos erros no teste reverso, o que reforça a hipótese que os cães
533 aprenderam a discriminar o objeto.

534 O teste de DNMP não diferiu estatisticamente do DNMS, portanto que o
535 aprendizado espacial foi semelhante ao reconhecimento do objeto. Head *et al.* (1995)
536 observou diferença entre os testes de reconhecimento do objeto e teste visuoespacial,
537 sendo o primeiro o mais difícil aos cães, tanto jovens quanto idosos.

538 Alguns cães aparentemente possuíam uma pequena preferência por um dos lados
539 durante o aprendizado, para então após aprender o objeto correto. Essa característica
540 também foi observada no estudo de Chan *et al.* (2002), no qual os cães mostravam
541 preferência a uma posição, o que foi chamado pelos autores de propensão à resposta
542 posicional. O mesmo estudo cita que os cães frequentemente desenvolvem uma
543 preferência a responder a uma posição quando apresentados a uma nova tarefa.

544 Cães que cometiam vários erros consecutivos perdiam o interesse em realizar as
545 tentativas. Walker (1969) explica que os comportamentos aprendidos costumam levar
546 a um bom desempenho somente quando há motivação para este desempenho. Dessa
547 forma, o condicionamento pavloviano é um mecanismo por meio do qual os seres
548 vivos desenvolvem previsões sobre recompensas e esse estado de expectativa ou
549 antecipação permite as adaptações comportamentais às demandas do ambiente
550 (SAVAGE e RAMOS, 2009).

551 Em geral, os animais apresentavam desempenhos crescentes com o passar dos
552 dias e a prática dos testes. Curiosamente, em 21 (44.7%) dos 47 dias chuvosos em
553 que foram realizados os testes os animais apresentavam desempenho mais baixo que
554 o dia anterior. Esse é um número bastante alto, em comparação com os dias de
555 desempenho inferior que não choveram, sendo esses últimos, 33 (9.7%) de 341 dias.

556 Para a realização dos testes cognitivos, utilizou-se o reforço positivo por meio da
557 oferta de petiscos, já que esses motivam os animais a aprender as tarefas (COTMAN
558 *et al.*, 2002).

559 O aparelho foi desenvolvido com base nos estudos de Milgram *et al.* (1994), o
560 qual serviu de base para vários outros estudos posteriores.

561 Os locais que continham a recompensa foram odorizados com o alimento para
562 evitar que os cães usem sugestão olfativa (CUMMINGS *et al.*, 1996 b), já que
563 habilidade olfativa dos cães é superior a dos humanos (MIKLÓSI, 2007).

564 Além disso, os objetos foram posicionados silenciosamente, para também evitar a
565 sugestão auditiva, porém nas frequências baixas de 20 a 250 Hz, os cães e os
566 homens ouvem com a mesma acuidade. No entanto, a região de sensibilidade
567 periférica máxima, ou seja, de melhor audição, de ambas as espécies difere: enquanto
568 os cães ouvem melhor entre 200 e 15000 Hz, essa faixa em seres humanos é de 1000
569 a 4000 Hz (BEAVER, 2001).

570 A preparação dos animais para a realização dos testes de abordagem à
571 recompensa e ao objeto foi baseada nos estudos de Adams *et al.* (2000 a), Cummings
572 *et al.* (1996 b), Head *et al.* (1998) e Milgram *et al.* (1994) com o objetivo de capacitar
573 os animais a utilizarem o aparelho, já que deveriam estar condicionados a abordar o
574 aparelho e responder aos objetos.

575 A distância de 60 cm eleita entre o aparelho e o animal foi baseada no estudo de
576 Adams *et al.* (2000 a), Beaver (2001) e Miklósi (2007), os quais citam que a distância
577 mínima para a formação do foco de visão do cão é entre 25 e 50 cm.

578 Os objetos utilizados para realização dos testes eram diferentes entre si quanto à
579 forma, ao tamanho e à coloração, como descrito em vários trabalhos (LANDSBERG,
580 2005; MILGRAM *et al.*, 1994, 2008; STUDZINSKI *et al.*, 2006). Acredita-se que os cães
581 possuem a capacidade de enxergar certas cores, mas se eles realmente as utilizam
582 em suas atividades diárias ainda é assunto de debate. Dentre os estudos para se

583 determinar se os cães conseguem distinguir cores, 10 de 17 concluíram que eles
584 possuem essa capacidade. Alguns desses estudos indicam que a forma e o brilho são
585 mais significativos que a cor (BEAVER, 2001). Os dois tipos de cones encontrados no
586 olho canino sugere que essa espécie tenha a visão bicromática, sendo que o olho
587 humano tem maior número de cones e visão tricromática (MIKLÓSI, 2007).

588 Assim como sugere o estudo de Adams *et al.* (2000 b), o teste de DNMP pode ser
589 uma ferramenta útil para avaliar a SDC em cães idosos, já que divide os cães idosos
590 em subgrupos, e por isso seus resultados também podem estar relacionados a
591 mudanças neuropatológicas do tecido neuronal. Além disso, segundo Cummings
592 (1996 b), ele é um dos testes que melhor demonstrou o acúmulo anormal de β -
593 amiloide no encéfalo dos cães, o qual pode estar relacionado com o nível de disfunção
594 cognitiva. Também foi um teste rapidamente aprendido pelos cães do presente estudo.
595 Portanto, esse teste poderia ser utilizado na rotina clínica para avaliação de cães com
596 alterações cognitivas por ser sensível e de rápido aprendizado e realização (em torno
597 de 20 minutos por dia). Porém, ele exige que os testes de abordagem à recompensa e
598 ao objeto sejam realizados previamente, o que totaliza em torno de 10 dias de
599 treinamento.

600 A literatura ainda carece de estudos que correlacionem entre si as alterações
601 comportamentais (por meio de questionários), os testes cognitivos e o exame
602 histopatológico do tecido cerebral. Assim como afirma Borràs *et al.* (1999), uma
603 grande variedade de alterações relacionadas à idade afeta diversas áreas do sistema
604 nervoso canino, porém a função desses achados na SDC permanece desconhecida e
605 necessita de mais estudos, o que concorda com o estudo de Cummings *et al.* (1996
606 b), o qual cita que testes de comportamento adicionais são necessários para
607 esclarecer ainda mais os mecanismos da cognição canina.

608

609

610 2.5. Conclusão

611 O sexo, a idade analisada, o porte e o ambiente do animal não tiveram influência
612 significativa no desempenho dos cães quanto ao número de dias nos testes
613 realizados. Os cães aprenderam mais facilmente o teste de discriminação do objeto do
614 que o aprendizado reverso e os testes de aprendizado espacial (DNMP) e de
615 reconhecimento do objeto (DNMS) apresentaram dificuldade semelhante quanto ao
616 número de dias dispendidos.

617 Portanto, ressalta-se a importância dos testes cognitivos para a clínica
618 neurológica e comportamental, já que foram ferramentas úteis para avaliar a cognição
619 dos cães e não apresentaram diferenças entre diversas categorias.

620 O teste de DNMP pode ser utilizado na rotina clínica para avaliação de cães com
621 alterações cognitivas por ser sensível e de rápido aprendizado, levando em torno de
622 10 dias para sua conclusão.

623 Necessita-se de estudos posteriores que correlacionem entre si as alterações
624 clínicas (questionários), os resultados dos testes cognitivos e dos exames
625 histopatológicos para melhor diagnosticar a SDC, além de contribuir para o
626 aperfeiçoamento do modelo animal para o estudo da DA.

627

628 2.6. Referências

629 Adams, B.; Chan, A.; Callahan, H.; Milgram, N. W., 2000 a. The canine as a model
630 of human cognitive aging: recent developments. **Prog. NeuroPsychopharmacol. Biol.**
631 **Psychiatry**, v.24, n.5, p.675-692.

632

633 Adams, B.; Chan, A.; Callahan, H.; Siwak, C.; Tapp, D.; Ikeda-Douglas, C.;
634 Atkinson, P.; Head, E.; Cotman, C.W.; Milgram, N. W., 2000 b. Use of a delayed non-
635 matching to position task to model age-dependent cognitive decline in the dog. **Behav.**
636 **Brain Res.**, v.108, n.1, p.47-56.

637

638 Ascaso, F. S. R., 1999. **Atlas de odontologia de pequenos animais**. Manole,
639 São Paulo.

640

641 Beaver, B., 2001. **Comportamento canino: um guia para veterinários**. Roca,
642 São Paulo.

643

644 Borràs, D.; Ferrer, I.; Pumarola, M., 1999. Age-related changes in the brain of the
645 dog. **Vet. Pathol.**, v.36, p.202-211.

646

647 Boutet, I.; Ryan, M.; Kulaga, V.; Mcshane, C.; Christie, L.; Freedman, M.; Milgram,
648 N.W., 2005. Age-associated cognitive deficits in humans and dogs: a comparative
649 neuropsychological approach. **Prog. NeuroPsychopharmacol. Biol. Psychiatry**,
650 v.29, n.3, p.433,441.

651

652 Callahan, H.; Ikeda-Douglas, C.; Head, E.; Cotman, C.W.; Milgram, N. W., 2000.
653 Development of a protocol for studying object recognition memory in the dog. **Prog.**
654 **NeuroPsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v.24, n.5, p.693-707.

655

656 Chan, A. D.; Nippak, P. M.; Murphey, H.; Ikeda-Douglas, C. J.; Muggenburg, B.;
657 Head, E.; Cotman, C. J.; Milgram, N. W., 2002. Visuospatial impairments in aged
658 canines (*Canis familiaris*): the role of cognitive behavioral flexibility. **Behav. Neurosci.**,
659 v.116, n.3, p.443-454.

660

661 Christie, L.; Studzinski, C. M.; Araujo, J. A.; Leung, C.S.K.; Ikeda-Douglas, C.;
662 Head, E.; Cotman, C.W.; Milgram, N. W., 2005. A comparison of egocentric and

663 allocentric age-dependent spatial learning in the beagle dog. **Prog.**
664 **NeuroPsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v.29, n.3, p.361-369.

665

666 Cotman, C. W.; Head, E.; Muggenburg, B. A.; Zicker, S.; Milgram, N. W., 2002.
667 Brain aging in the canine: a diet enriched in antioxidants reduces cognitive dysfunction.
668 **Neurobiol. Aging**, v.23, p.809-818.

669

670 Cummings, B. J.; Head, E.; Afagh, A. J.; Milgram, N. W.; Cotman, C. W., 1996 b.
671 β -Amiloid accumulation correlates with cognitive dysfunction in the aged canine.
672 **Neurobiol. Learn. Mem.**, v.66, n.1, p.11-23.

673

674 Dyer, D. The effects of aging on the behavioral health of dogs: special
675 considerations for the aging canine population. **Proceedings of the North American**
676 **Veterinary Conference**. Orlando, Florida, 2005, p.29-31.

677

678 Feitosa, F. L. L., 2004. **Semiologia Veterinária**. A Arte do Diagnóstico. 1st. ed.
679 Roca, São Paulo.

680

681 Frank, D. Cognitive Dysfunction in Dogs. **Net**, Montreal. Disponível em:
682 <www.ivis.org/proceedings/Hills/brain/frank.pdf?LA=1>. Acesso em: 02 ago. 2008.

683

684 Goldston, R.T., 1989. Geriatrics & Gerontology. **Vet. Clin. North Am. Small Anim.**
685 **Pract.**, v.19, p.1-202.

686

687 Head, E.; Mehta, R.; Hartley, J.; Kameka, M.; Cummings, B.J.; Cotman, C.W.;
688 Ruehl, W.W.; Milgram, N.W., 1995. Spatial learning and memory as a function of age in
689 the dog. **Behav. Neurosci.**, v.109, n.5, p.851-858.

690

691 Head, E.; Hartley, J.; Kameka, A.N.; Mehta, R.; Ivy, G.O.; Ruehl, W.W.; Milgram,
692 N.W., 1996. The effect of L-deprenil on spatial short term memory in young and aged
693 dogs. **Prog. NeuroPsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v.20, n.3, p.515-530.

694

695 Head, E.; Callahan, H.; Muggenburg, B.A.; Cotman, C.W.; Milgram, N.W., 1998.
696 Visual-Discrimination Learning Ability and β -Amiloid Accumulation in the Dog.
697 **Neurobiol. Aging**, v.19, n.5, p.415-425.

698

699 Kiatipattanasakul, W.; Nakamura, S.; Hossain, M. M.; Nakayama, H.; Uchino, T.;
700 Shumiya, S.; Goto, N.; Doi, K., 1996. Apoptosis in the aged dog brain. **Acta**
701 **Neuropathol.**, v.92, p.242-248.

702

703 Landsberg, G.; Ruehl, W., 1997. Geriatric behavior problems. In: Houpt, K. **The**
704 **Veterinary clinics of north america small animal practice: geriatrics**. Philadelphia:
705 W. B. Saunders, p.1537-1559.

706

707 Landsberg, G., 2005. Therapeutic agents for the treatment of cognitive dysfunction
708 syndrome in senior dogs. **Prog. NeuroPsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v.29, n.3,
709 p.471-479.

710

711 Miklósi, A., 2007. **Dog behavior, evolution and cognition**. Oxford University
712 Press, New York.

713

714 Milgram, N. W.; Head, E.; Weiner, E.; Thomas, E., 1994. Cognitive functions and
715 aging in the dog: acquisition of nonspatial visual tasks. **Behav. Neurosci.**, v.108, n.1,
716 p.57-68.

717

718 Milgram, N.W.; Adams, B.; Callahan, H.; Head, E.; Mackay, B.; Thirlwell, C.;
719 Cotman, C.W., 1999. Landmark discrimination learning in the dog. **Learn. Mem.**, v.6,
720 n.1, p.54-61.

721

722 Milgram, N. W.; Head, E.; Muggenburg, B.; Holowachuk, D.; Murphey, H.; Estrada,
723 J.; Ikeda-Douglas, C.J.; Zicker, S. C.; Cotman, C. W., 2002. Landmark discrimination
724 learning in the dog: effects of age, an antioxidant fortified food, and cognitive strategy.
725 **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v.26, n.6, p.679-695.

726

727 Milgram, N. W.; Zicker, S. C.; Head, E.; Cotman, C. W. Effect of an antioxidant-diet
728 and cognitive enrichment on age-dependent cognitive dysfunction in dogs. **Net**,
729 Toronto. Disponível em: <www.ivis.org/proceedings/Hills/brain/milgram.pdf?LA=1>.
730 Acesso em: 29 jul. 2008.

731

732 Nippak, P.M.D.; Milgram, N.W., 2005. An investigation of the relationship between
733 response latency across several cognitive tasks in the beagle dog. **Prog.**
734 **NeuroPsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v.29, n.3, p.371-377.

735

736 Nippak, P.M.D.; Mendelson, J.; Muggenburg, B.; Milgram, N.W., 2007. Enhanced
737 spatial ability in aged dogs following dietary and behavioural enrichment. **Neurobiol.**
738 **Learn. Mem.**, v.87, n.4, p.610-623.

739

740 Osthaus, B.; Marlow, D.; Ducat, P. Minding the gap: spatial perseveration error in
741 dogs. **Anim. Cogn.**, 2010 Jun 20. [Epub ahead of print]

742

743 Platt, S.R.; Olby, N.J. (Eds)., 2004. **BSAVA Manual of Canine and Feline**
744 **Neurology**. 3. ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.

745

746 Pompili, A.; Tomaz, C.; Arnone, B.; Tavares, M.C.; Gasbarri, A., 2010. Working
747 and reference memory across the estrous cycle of the rat: a long-term study in
748 gonadally intact females. **Behav. Brain Res.**, v.213, n.1, p.10-18.

749

750 Prato-Previde, E.; Marshall-Pescini, S.; Valsecchi, P., 2008. Is your choice my
751 choice? The owners' effect on pet dogs' (*Canis lupus familiaris*) performance in a food
752 choice task. **Anim. Cogn.**, v.11, n.1, p.167-174.

753

754 Rofina, J. E.; Van Ederen, A. M.; Toussaint, M. J. M.; Secrève, M.; Van Der Spek,
755 A.; Van Der Meer, I.; Van Eerdenburg, F. J. C. M.; Gruys, E., 2006. Cognitive
756 disturbances in old dogs suffering from the canine counterpart of Alzheimer's disease.
757 **Brain Res.**, v.1069, n.1, p.216-226.

758

759 Savage, L.M.; Ramos, R.L., 2009. Reward expectation alters learning and
760 memory: the impact of the amygdala on appetitive-driven behaviors. **Behav. Brain**
761 **Res.**, v.198, n.1, p.1-12.

762

763 Studzinski, C. M.; Araujo, J. A.; Milgram, N. W., 2005. The canine model of human
764 cognitive aging and dementia: Pharmacological validity of the model for assessment of
765 human cognitive-enhancing drugs. **Prog. NeuroPsychopharmacol. Biol. Psychiatry**,
766 v.29, n.3, p.489-498.

767

768 Studzinski, C.M.; Christie, L.; Araujo, J.A.; Burnham, W.M.; Head, E.; Cotman,
769 C.W.; Milgram, N.W., 2006. Visuospatial function in the beagle dog: an early marker of

770 cognitive decline in a model of human aging and dementia. **Neurobiol. Learn. Mem.**,
771 v.86, n.2, p.197-204.

772

773 Tapp, P.D.; Siwak, C.T.; Head, E.; Cotman, C.W.; Murphey, H.; Muggenburg, B.A.;
774 Ikeda-Douglas, C.; Milgram, N.W., 2004. Concept abstraction in the aging dog:
775 development of a protocol using successive discrimination and size concept tasks.
776 **Behav. Brain Res.**, v.153, n.1, p.199-210.

777

778 Tapp, P.D.; Siwak, C.T.; Estrada, J.; Head, E.; Muggenburg, B.A.; Cotman, C.W.;
779 Milgram, N.W., 2003 a. Size and Reversal Learning in the Beagle Dog as a Measure of
780 Executive Function and Inhibitory Control in Aging. **Learn. Mem.**, v.10, n.1, p.64-73.

781

782 Tapp, P.D.; Siwak, C.T.; Estrada, J.; Holowachuk, D.; Milgram, N.W., 2003 b.
783 Effects of Age on Measures of Complex Working Memory Span in the Beagle Dog
784 (*Canis familiaris*) Using Two Versions of a Spatial List Learning Paradigm. **Learn.**
785 **Mem.**, v.10, n.2, p.148-160.

786

787 Walker, E.L., 1969. **Aprendizagem: o condicionamento e a aprendizagem**
788 **instrumental**. Herder, São Paulo.

789

790 Zicker, S. C., 2005. Cognitive and behavioral assessment in dogs and pet food
791 market applications. **Prog. NeuroPsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v.29, n.3,
792 p.455-459.

793

CONCLUSÕES GERAIS

Com a metodologia utilizada nesse estudo, conclui-se que:

- Os cães confinados em canis e os cães pertencentes a proprietários não diferiram entre si em todos os testes;
- Os cães de idade inferior a quatro anos e os cães de idade igual ou superior a quatro anos tiveram o mesmo desempenho em todos os testes;
- Os cães de peso inferior a 20 kg e os cães de peso igual ou superior a 20 kg tiveram o mesmo desempenho em todos os testes;
- Tanto os cães machos quanto as fêmeas tiveram o mesmo desempenho em todos os testes;
- Os cães de raça definida e os cães SRD tiveram o mesmo desempenho em todos os testes;
- Os cães treinados durante o dia e os cães treinados durante o início da noite tiveram o mesmo desempenho em todos os testes;
- O teste de discriminação do objeto foi mais fácil aos cães do que o aprendizado reverso, o que indica que a flexibilidade cognitiva é mais difícil aos cães;
- Os testes de aprendizado espacial (DNMP) e de reconhecimento do objeto (DNMS) apresentaram dificuldade semelhante aos cães;
- O teste de DNMP poderia ser utilizado na rotina clínica para avaliação de cães com alterações cognitivas por ser sensível e de rápido aprendizado.

BIBLIOGRAFIA (Capítulo 1)

ADAMS, B.; CHAN, A.; CALLAHAN, H.; MILGRAM, N. W. The canine as a model of human cognitive aging: recent developments. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v.24, n.5, p.675-692, 2000 a.

ADAMS, B.; CHAN, A.; CALLAHAN, H.; SIWAK, C.; TAPP, D.; IKEDA-DOUGLAS, C.; ATKINSON, P.; HEAD, E.; COTMAN, C.W.; MILGRAM, N. W. Use of a delayed non-matching to position task to model age-dependent cognitive decline in the dog. **Behavioural Brain Research**, v.108, n.1, p.47-56, 2000 b.

BARTOLO, P.; MANDOLESI, L.; FEDERICO, F.; FOTI, F.; CUTULI, D.; GELFO, F.; PETROSINI, L. Cerebellar involvement in cognitive flexibility. **Neurobiology of Learning and Memory**, v.92, n.3, p.310-317, 2009.

BÄUML, K. H.; PASTÖTTER, B.; HANSLMAYR, S. Binding and inhibition in episodic memory - Cognitive, emotional, and neural processes. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.34, n.7, p.1047-1054, 2010.

BORRÀS, D.; FERRER, I.; PUMAROLA, M. Age-related changes in the brain of the dog. **Veterinary Pathology**, v.36, p.202-211, 1999.

CHAN, A. D.; NIPPAK, P. M.; MURPHEY, H.; IKEDA-DOUGLAS, C. J.; MUGGENBURG, B.; HEAD, E.; COTMAN, C. J.; MILGRAM, N. W. Visuospatial impairments in aged canines (*Canis familiaris*): the role of cognitive behavioral flexibility. **Behavioral Neuroscience**, v.116, n.3, p.443-454, 2002.

CHRISMAN, C. L.; MARIANI, C. L.; PLATT, S. R.; CLEMMONS, R. M. **Neurology for the small animal practitioner**. Alpine: Teton NewMedia, 2003. 353p.

COTMAN, C. W.; HEAD, E.; MUGGENBURG, B. A.; ZICKER, S.; MILGRAM, N. W. Brain aging in the canine: a diet enriched in antioxidants reduces cognitive dysfunction. **Neurobiology of Aging**, v.23, p.809-818, 2002.

CUMMINGS, B. J.; HEAD, E.; RUEHL, W.W.; MILGRAM, N. W.; COTMAN, C. W. The canine as an animal model of human aging and dementia. **Neurobiology of Aging**, v.17, n.2, p.259-268, 1996a.

CUMMINGS, B. J.; HEAD, E.; AFAGH, A. J.; MILGRAM, N. W.; COTMAN, C. W. β -Amiloid accumulation correlates with cognitive dysfunction in the aged canine. **Neurobiology of Learning and Memory**, v.66, n.1, p.11-23, 1996b.

DYER, D. The effects of aging on the behavioral health of dogs: special considerations for the aging canine population. In: NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, 2005, Orlando. **Proceedings...** Florida, 2005. p.29-31.

EYSENCK, M. W.; KEANE, M. T. **Manual de psicologia cognitiva**. Porto Alegre: Artmed, 2007. 608p.

FOX, M. W. **Integrative development of brain and behavior in the dog**. Chicago: University of Chicago Press, 1971.

FRANK, D. Cognitive dysfunction in dogs. **Net**, Montreal. Disponível em: <www.ivis.org/proceedings/Hills/brain/frank.pdf?LA=1>. Acesso em: 02 ago. 2008.

HEAD, E.; MEHTA, R.; HARTLEY, J.; KAMEKA, M.; CUMMINGS, B.J.; COTMAN, C. W.; RUEHL, W. W.; MILGRAM, N. W. Spatial learning and memory as a function of age in the dog. **Behavioral Neuroscience**, v.109, n.5, p.851-858, 1995.

HEAD, E.; CALLAHAN, H.; MUGGENBURG, B. A.; COTMAN, C. W.; MILGRAM, N. W. Visual-discrimination learning ability and β -amiloid accumulation in the dog. **Neurobiology of Aging**, v.19, n.5, p.415-425, 1998.

HEAD, E.; ROFINA, J.; ZICKER, S. Oxidative stress, aging, and central nervous system disease in the canine model of human brain aging. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.38, n.1, p.167-178, 2008.

INAGAWA, K.; SEKI, S.; BANNAI, M.; TAKEUCHI, Y.; MORI, Y.; TAKAHASHI, M. Alleviative effects of gamma-aminobutyric acid (GABA) on behavioral abnormalities in aged dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.67, n.10, p.1063-1066, 2005.

INGRAM, D. K.; WILLIAMS, N. Neurobiology of cognitive dysfunction syndrome in dogs. Clinical and Nutritional Management of Senior Dogs and Cats. In: WORLD CONGRESS WSAVA, 2002, Granada. **Proceedings...** Granada, 2002. p.25-30.

KIATIPATTANASAKUL, W.; NAKAMURA, S.; HOSSAIN, M. M.; NAKAYAMA, H.; UCHINO, T.; SHUMIYA, S.; GOTO, N.; DOI, K. Apoptosis in the aged dog brain. **Acta Neuropathology**, v.92, p.242-248, 1996.

LANDSBERG, G.; RUEHL, W. Geriatric behavior problems. In: HOUP, K. **The veterinary clinics of North America small animal practice: geriatrics**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1997. p.1537-1559.

LANDSBERG, G. Therapeutic agents for the treatment of cognitive dysfunction syndrome in senior dogs. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.29, n.3, p.471-479, 2005.

MILGRAM, N. W.; HEAD, E.; WEINER, E.; THOMAS, E. Cognitive functions and aging in the dog: acquisition of nonspatial visual tasks. **Behavioral Neuroscience**, v.108, n.1, p.57-68, 1994.

MILGRAM, N. W.; ZICKER, S. C.; HEAD, E.; COTMAN, C. W. Effect of an antioxidant-diet and cognitive enrichment on age-dependent cognitive dysfunction in dogs. **Net**, Toronto. Disponível em: <www.ivis.org/proceedings/Hills/brain/milgram.pdf?LA=1>. Acesso em: 29 jul. 2008.

NEILSON, J. C.; HART, B. L.; CLIFF, K. D.; RUEHL, W. W. Prevalence of behavioral changes associated with age-related cognitive impairment in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.218, p.1787-1791, 2001.

OSELLA, M. C.; RE, G.; ODORE, R.; GIRARDI, C.; BADINO, P.; BARBERO, R.; BERGAMASCO, L. Canine cognitive dysfunction syndrome: prevalence, clinical signs and treatment with a neuroprotective nutraceutical. **Applied Animal Behaviour Science**, v.105, p.297-310, 2007.

OSTHAUS, B.; MARLOW, D.; DUCAT, P. Minding the gap: spatial perseveration error in dogs. **Animal Cognition**, v.13, p.881-885, 2010.

ROFINA, J. E.; Van EDEREN, A. M.; TOUSSAINT, M. J. M.; SECRÈVE, M.; VAN DER SPEK, A.; VAN DER MEER, I.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M.; GRUYS, E. Cognitive disturbances in old dogs suffering from the canine counterpart of Alzheimer's disease. **Brain Research**, v.1069, n.1, p.216-226, 2006.

SIWAK, C.T.; TAPP, P.D.; ZICKER, S.C.; MURPHEY, H.L.; MUGGENBURG, B.A.; HEAD, E.; COTMAN, C.W.; MILGRAM, N.W. Locomotor activity rhythms in dogs vary with age and cognitive status. **Behavioral Neuroscience**, v.117, n.4, p.813-824, 2003.

STUDZINSKI, C. M.; ARAUJO, J. A.; MILGRAM, N. W. The canine model of human cognitive aging and dementia: Pharmacological validity of the model for

assessment of human cognitive-enhancing drugs. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.29, n.3, p.489-498, 2005.

SU, M.; HEAD, E.; BROOKS, W. M.; WANG, Z.; MUGGENBURG, B. A.; ADAM, G. E.; SUTHERLAND, R.; COTMAN, C. W.; NALCIOGLU, O. Magnetic resonance imaging of anatomic and vascular characteristics in a canine model of human aging. **Neurobiology of Aging**, v.19, n.5, p.479-485, 1998.

TAPP, P. D.; SIWAK, C.T. The canine model of human brain aging: cognition, behavior and neuropathology. In: CONN, P. M. **Handbook of models for human aging**. New York: Elsevier Academic Press, 2006. cap.35, p.415-434.

ZICKER, S. C. Cognitive and behavioral assessment in dogs and pet food market applications. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.29, n.3, p.455-459, 2005.

ANEXOS

TABELA 5. Número de erros cometidos nos testes cognitivos para obtenção do objetivo

Nome	Abordagem à recompensa	Abordagem ao objeto	Discriminação do objeto	Aprendizado reverso	DNMP	DNMS
Bianca	1	6	18	66	18	7
Boni	9	14	17	65	4	8
Branquinha	18	20	14	33	26	19
Bruce	11	9	6	33	4	35
Cacá	2	6	11	30	1	4
Jack	12	9	16	78	18	1
Kate	0	9	21	54	5	17
Kiara	6	15	23	45	4	6
Logan	0	5	3	23	1	22
Melanie	25	11	5	26	7	5
Petrukio	13	17	16	18	30	4
Salsicha	0	18	14	69	4	3
Tom	0	6	19	36	1	1
Vicky	20	22	12	49	7	1
Zé	20	18	43	103	4	17

TABELA 6. Número de dias dos testes cognitivos (10 tentativas por dia) necessários para obtenção do objetivo

Nome	Abordagem à recompensa	Abordagem ao objeto	Discriminação do objeto	Aprendizado reverso	DNMP	DNMS
Bianca	1	3	5	10	6	3
Boni	4	5	6	11	2	3
Branquinha	4	5	4	6	6	4
Bruce	3	3	3	5	2	10
Cacá	2	3	4	8	1	2
Jack	3	3	4	12	6	1
Kate	1	3	5	8	2	4
Kiara	3	4	7	7	2	2
Logan	1	2	2	6	1	6
Melanie	4	4	2	7	3	2
Petrukio	3	5	5	5	8	2
Salsicha	1	5	5	10	2	2
Tom	1	3	5	9	1	1
Vicky	4	6	4	9	3	1
Zé	4	4	8	14	2	5

TABELA 7. Número de dias dos testes cognitivos (10 tentativas por dia) necessários para obtenção do objetivo (sem contato visual com o experimentador)

Nome	Abordagem à recompensa	Abordagem ao objeto	Discriminação do objeto
Amarela	1	3	7
Berê	1	5	5
Manu	1	2	7
Pretinha	4	2	-
Média ± desvio padrão	1,75±1,50	3,00±1,41	6,33±1,15

TABELA 8. Número de erros cometidos nos testes cognitivos para obtenção do objetivo (sem contato visual com o experimentador)

Nome	Abordagem à recompensa	Abordagem ao objeto	Discriminação do objeto
Amarela	0	9	25
Berê	1	16	19
Manu	1	4	26
Pretinha	12	5	-
Média ± desvio padrão	3,50±5,69	8,50±5,45	23,33±3,79