

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra etologie a zájmových chovů**



**Vliv stresu na hladinu kortizolu ve slinách psa**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Bc. Marta Jelínková**

**Obor studia: Kynologie**

**Vedoucí práce: Ing. Kristýna Machová, PhD.**

© 2019 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv stresu na hladinu kortizolu ve slinách psa" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne \_\_\_\_\_

### **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Kristýně Machové Ph.D. za její vedení, cenné rady a připomínky při psaní této práce.

# Vliv stresu na hladinu kortizolu ve slinách psa

## Souhrn

Stres obvykle klasifikujeme podle jeho délky trvání na akutní nebo chronický, podle účinků na organizmus na eustres a distres, a podle působících stresorů na fyziologický stres, psychogenní stres nebo strach. Stres může různě silnými podněty vyvolat rozdílné adaptační reakce. Nejlepší odolnost vůči stresoru vyvolá reakce na středně silné podněty, při které dochází k dostatečné stimulaci organismu, a zároveň nedochází k inhibici některých systémů.

Během stresové reakce dochází prostřednictvím nervových a endokrinních mechanismů k obousměrné komunikaci mezi mozkiem, kardiovaskulárními, imunitními a jinými systémy. Dochází k aktivaci hypotalamo-hypofyzárně-adrenokortikálního systému, který je spojen s důležitými kognitivními a afektivními procesy, které mohou mít vliv na zdraví i nemoc. Dlouhodobý stres působí negativně na nervové buňky v mozku a vede k zhoršené schopnosti učit se, zapamatovat si a přijímat rozhodnutí, a zároveň ke zvýšené hladině úzkosti a agrese. Stres také moduluje imunokompetenci, a to může vést ke zvýšené náchylnosti k onemocnění.

Každé zvíře má jinou strategii, jak se vyrovnat se stresem. Tyto schopnosti ovlivňuje genotyp, vývoj, zkušenosti, sociální podpora a další. U psů hraje velkou roli také domestikace. Při konfrontaci se stresem můžeme rozlišovat několik strategií. Jedna z nich se projevuje vystrašeným chováním a nazývá se strach. Další se projevuje bojovností a útočností a označuje se jako agresivně-dominantní, poslední strategie zahrnuje nerozhodný vnitřní stav psa a byly u ní pozorovány nejvyšší koncentrace stresových hormonů.

Hlavními měřitelnými hormony vylučovanými během stresu jsou glukokortikoidy, které při krátkodobém působení mohou zvýšit fitness jedince, avšak při dlouhodobém působení mají opačný efekt. Pomocí hladiny glukokortikoidů, konkrétně kortizolu, můžeme identifikovat stres u psů. Kortizol se projevuje v krvi, moči, výkalech a slinách. Kortizol není vylučován z kůry nadledvin kontinuálně ale v několika vlnách během dne, což může ovlivnit měření. Stres můžeme měřit i jinými fyziologickými ukazateli, jako jsou slinný imunoglobulin A, poměr neutrofilů a lymfocytů, srdeční frekvence a její variabilita a chromogranin A. Glukokortikoidy se také ukládají v srsti psa. Stres můžeme posuzovat i dle behaviorálních změn.

V praxi náchylnost psa na stres výrazně ovlivňuje psovod. Přátelské komunikační signály mohou přispět ke snížení stresu u psa. Stres se u psů projevuje při jejich pracovním vytížení, ale také při nenadálých situacích jako je hospitalizace, transport a jiné.

**Klíčová slova:** stres, kortizol, pes

# **Influence of stress on the level of cortisol in dog saliva**

## **Summary**

Stress is usually classified according to its duration as acute or chronic, according to the effects on the organism as eustres or distress, and according to the effect of stressors as physiological, psychogenic or fear. Stress can induce different adaptive responses in variously strong stimuli. The best resistance to stressor is caused by a reaction to moderate stimuli, when sufficient stimulation of the organism occurs, and concurrently there is no inhibition of other systems.

During a stress response there is two-way communication between the brain, cardiovascular, immune and other systems, mediated by nerve and endocrine mechanisms. The hypothalamic-pituitary-adrenocortical system is activated, this system is associated with important cognitive and affective processes that can affect health and disease. Long-term stress has a negative effect on nerve cells in the brain and leads to impaired learning, remembering and making decisions, and also to increased anxiety and aggression. Stress also modulates immunocompetence, which can lead to increased susceptibility to disease.

Each animal has a different strategy to deal with stress. These skills are influenced by genotype, evolution, experience, social support and others. Domestication also plays a major role. During confrontation with a stressor, several strategies can be distinguished. The first strategy is manifested by frightened behavior is referred to as fear. The second strategy is manifested by fight and aggression and is referred to as aggressively-dominant. The third strategy includes indecisive inner mood of the dog and there have been observed the highest concentrations of stress hormones.

The main measurable hormones secreted during stress are glucocorticoids, which in the short term may increase the fitness of the individual, but in the long term have the opposite effect. By Using glucocorticoid levels, specifically cortisol, we can identify stress in dogs. Cortisol is manifested in blood, urine, faeces and saliva. Cortisol is not secreted from the adrenal cortex continuously but in several waves during the day, which may affect measurement. Stress can also be measured by other physiological indicators such as salivary immunoglobulin A, neutrophil/lymphocyte ratio, heart rate and its variability, and chromogranin A. Glucocorticoids are also deposited in the dog's hair. Stress can also be assessed by behavioral changes.

In practice, the handler significantly affects the dog's susceptibility to stress. Friendly communication signals can help reduce stress in the dog. Stress in dogs is reflected in their workload, but also in sudden situations such as hospitalization, transport and others.

**Keywords:** stress, cortisol, dog

## **Obsah**

<b>1 Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2 Cíl práce .....</b>	<b>2</b>
<b>3 Literární přehled.....</b>	<b>3</b>
3.1 Stres.....	3
3.1.1 Stres, eustres a distres .....	3
3.1.2 Fyziologie stresu .....	4
3.1.3 Stres v přírodě.....	9
3.1.4 Klasifikace a příčiny stresu .....	10
3.1.5 Vztah mezi stresovou odpovědí a imunitním systémem .....	11
3.1.6 Odolávání stresu (Coping) .....	12
3.1.7 Vliv domestikace na vnímání stresu .....	15
3.2 Glukokortikoidy .....	15
3.2.1 Způsoby stanovení glukokortikoidů .....	16
3.2.2 Negativní vliv glukokortikoidů.....	16
3.2.3 Kortizol .....	17
3.3 Kvantifikace (měření) stresu .....	19
3.3.1 Fyziologické měření stresu .....	20
3.3.2 Obsah kortizolu v srsti psa.....	22
3.3.3 Behaviorální ukazatele stresu u psů.....	23
3.4 Projevy stresu v praxi.....	24
3.4.1 Stresové chování u hospitalizovaných psů .....	24
3.4.2 Vliv hry na koncentraci slinného kortizolu psů .....	24
3.4.3 Kortizol ve slinách psa během AAI .....	25
<b>4 Závěr.....</b>	<b>28</b>
<b>5 Seznam použité literatury.....</b>	<b>29</b>

# 1 Úvod

Soužití psa s člověkem může psovi přinášet mnoho stresujících situací. Psi se svými majiteli komunikují pomocí různých signálů, které jsou pro některé majitele těžko pochopitelné. Po boku svých majitelů psi provádějí rozličné sporty, doprovázejí je na cestách i ve společnosti. Spolupráce psa a člověka je také využívána v rámci mnoha pracovních pozic jako jsou policejní složky, záchranáři a v poslední době také při terapiích. Ve všech těchto činnostech je důležitá znalost welfare psa. K zajištění welfare psa je nezbytné posuzovat nejen jeho chování, ale také jednotlivé fyziologické parametry. Mezi tyto parametry patří hodnocení stresu. Stres je ve své podstatě fyziologická reakce, která nastává v situacích, kdy je fyziologická rovnováha těla narušena vnějšími vlivy. Tato definice stresu je známa už od roku 1936, kdy ji vyslovil kanadský lékař, biolog a chemik, Hans Selye. Pro identifikaci stresu je stěžejní vylučování hormonu kortizolu, a právě vlivem stresu na hladinu kortizolu u psa se bude zabývat i tato práce.

## **2 Cíl práce**

Cílem práce je shrnout aktuální dostupnou literaturu na téma vlivu stresu na hladinu kortizolu ve slinách psa.



## 3 Literární přehled

### 3.1 Stres

#### 3.1.1 Stres, eustres a distres

V roce 1915 byla americkým vědcem Waltrem B. Cannonem vyslovena jedna z prvních teorií o fyziologii stresu. Cannon ve svém popisu vycházel z teorie homeostázy, při které se poplachový mechanismus snaží o znovuoobnovení fyziologické rovnováhy ve vnitřním prostředí. Selye (1936) popsal stres jako snahu organismu, přizpůsobit se nově vytvořeným situacím, která je srovnatelná s imunitní nebo zánětlivou reakcí organismu. Vzniklo tak označení GAS (General Adaptation Syndrome), což můžeme přeložit jako všeobecný (v tomto smyslu nespecifický) adaptační syndrom (Večeřová-Procházková & Honzák 2008). Tento syndrom může způsobit fyzické onemocnění, i smrt, ale také zlepšit odolnost těla před nepříznivými stavy (Selye 1950). V roce 1976 představil Selye pojmy eustres a distres, které objasňují rozdílné reakce na stres. Fyziologický mechanismus stresového pokroku, který popsal, vysvětluje pouze negativní účinky adaptačního syndromu. Téma eustresu bývá obecně v literatuře opomínáno (Le Fevre et al. 2003).

Podle Nelsona & Simmonse (2003) je koncepce eustresu neúplná. Málo výsledků z výzkumu o eustresu může být způsoben nedostatkem jasných kritérií, které by odlišily tento typ stresu od ostatních. Quick et al. (1997) identifikovali eustres jako zdravý, pozitivní, konstruktivní výsledek stresové události a reakce na tuto událost. Eustres je tedy považován za výsledek reakce těla na stresor. Druhý pohled, jak porozumět eustresu nabídl Lazarus (1993), který tvrdí, že eustres je pozitivní kognitivní odpověď na stresor. Tento typ stresu je spojen s pozitivními pocity a zdravým fyzickým stavem, zatímco distres je silným stresem spojeným s negativními pocity a fyzickými postiženími. Eustres může být vykládán jako až radostná reakce na stresor.

Hlavním faktorem, který určuje, zda bude stresor působit jako eustres nebo distres, je vnímání a interpretace situace jednotlivcem. Vnímání stresoru také ovlivňuje doba jeho trvání, jeho zdroj, ovladatelnost a vhodnost (Le Fevre et al. 2006). Nelson & Simmons (2003) také předpokládají, že eustres a distres mohou nastat současně. Nicméně fyziologicky existuje v organismu pouze jedna reakce na stresor, i když poměr a počet strukturních prvků, které se účastní reakce, se může lišit, a tedy můžeme mluvit o různých reakcích na stresor (Garkavi et al. 1998).

Garkavi et al. (1979) zjistili, že adaptace na silné podněty a na podněty slabé je jiná. Adaptace na silný podnět nastává nejen díky nadměrné stimulaci některých subsystémů organismu, ale také prostřednictvím inhibice aktivity ostatních systémů tzv. defenzivních subsystémů. Při adaptaci na slabý podnět nedochází k žádné inhibici ani významné stimulaci ochranných subsystémů. Adaptivní reakce na středně silný podnět zvyšuje aktivitu ochranných subsystémů a způsobuje, že organismus se stává odolným vůči škodlivým účinkům. Autoři tuto reakci nazvali jako „aktivační reakci“, a definovali ji jako odezvu na působení středně silných stimulů různé kvality. Tuto reakci charakterizovali rychlým, ale ne nadměrným zvýšením aktivity ochranných a regulačních systémů organismu. Identifikace různých typů nescifických adaptivních reakcí umožnila autorům Garkavi et al. (1998) navrhnout techniku „aktivační terapie“. Základní myšlenkou této terapie je provokovat nezbytnou adaptaci imunitní reakce v organismu prostřednictvím kontrolovaného vnějšího podnětu nebo léku (tj. pomocí stresoru). Tedy je to vlastně vyvolání „aktivační reakce“, která je nezbytná k vyvolání profylaxe (ochrana před určitou nemocí) onemocnění. Aktivační terapie by mohla být využita pro jako metoda léčby onemocnění.

Důležité je také definovat rozdíl působení distresu a eustresu na adaptivní schopnosti organismu. Distres, je typ stresu, který vede ke zhoršení adaptivních schopností organismu, naproti tomu eustres, je typ stresu, který iniciuje zvýšení adaptivních schopností (Kupriyanov & Zhadanov 2014).

### **3.1.2 Fyziologie stresu**

Objev metabolických, imunologických a neuroendokrinních mechanismů umožňuje fyziologicky popsat stresovou reakci. Na stresové reakci se podílí množství hormonů, např. adrenokortikotropní hormon (ACTH), glukokortikoidy, katecholaminy, prolaktin apod.). Klíčovou roli zde mají nadledviny, které se podílejí na hypotalamo-hypofyzárně-adrenokortikální (HPA) ose a také na sympaticko-adrenálně-medulárním systému (SAM). Nepříznivé situace vyvolávají v nadledvinách reakce, které vedou ke zvýšené sekreci glukokortikoidu a/nebo katecholaminu. Tato reakce je přední linií k obraně organismu před stresovými stavy (Moberg 2000).

Klíčovým orgánem reakce na stres je mozek, který dokáže rozeznat potenciálně stresující podněty, na které navazují reakce fyziologické a behaviorální. Tyto reakce mohou být buď adaptivní nebo škodlivé. Stres zahrnuje obousměrnou komunikaci mezi mozkem

a kardiovaskulárními, imunitními a jinými systémy prostřednictvím nervových a endokrinních mechanismů (McEwen 2007).

Na počátku všech neurochemických a neurofyziologických stresových dějů se nachází behaviorální inhibiční centrum, jehož základem jsou *locus coeruleus* a *nukleus raphae*, které odpovídají za orientační reakci a následně spolu s paměťovou bankou dokáží vyhodnotit stupeň nebezpečí nové situace. Okolnosti jako signály bolesti, nebezpečí, frustrace aj. vyvolávají reakci funkčních struktur behaviorálního centra a jsou označovány jako stresory (spouštěče stresu). Nejvýznamnějším neurotransmiterem (nízkomolekulární chemická látka sloužící k přenosu vzruchů mezi nervovými buňkami) je noradrenalin, který reguluje aktivaci nabuzení a který aktivuje sympatickou část autonomního nervového systému, do které zahrnuje všechny periferie, kde působí na dřeň nadledvin. Dřeň nadledvin následně začne vylučovat do krevního řečiště adrenalin. Velká část tělních buněk má adrenergní receptory, na které působí adrenalin i noradrenalin, což má za důsledek vzestup krevního tlaku, tepové frekvence, zrychlení dechu, pocení a dalších příznaků (Večeřová-Procházková & Honzák 2008).

Během stresové reakce dochází také k podráždění některých oblastí hypotalamu, který začne vylučovat Corticotropin Releasing Hormone (CRH), CRH následně stimuluje přední hypofýzu k vylučování ACTH. ACTH se přes krevní řečiště dostává ke kůře nadledvin a způsobuje její produkci kortizolu a glukokortikoidů. Tělní buňky mají kromě adrenergních receptorů také receptory pro glukokortikoidy, které iniciují komplexní behaviorální odpověď na stres, mezi které patří zvýšená mobilizace glukózy a vyšší aktivita krevního oběhu. Krátkodobý účinek glukokortikoidů je výhodný, zatímco jeho dlouhodobé působení poškozuje organismus (Večeřová-Procházková & Honzák 2008).

HPA osa je životně důležitá také pro podporu normálních fyziologických funkcí a pro regulaci dalších systémů. Rozhodující roli v metabolismu má kortizol, který mobilizuje energetické zdroje a poskytuje „palivo“ tělu. Většinou se to projevuje zvýšenou hladinou glukózy v krvi (přeměnou aminokyselin a dalších substrátů na glukózu probíhající v játrech a podporou štěpení zásob tuků i bílkovin v tkáních). Celkovým výsledkem působení kortizolu je uvolnění energetických rezerv, které umožňují odpovídající metabolické fungování. Kortizol se ale účastní i jiných systémů, například dokáže inhibovat některé z aspektů fungování imunitního systému, protože dokáže předně inhibovat proteiny, které hrají ústřední roli při regulaci zánětu. Kortizol působí i v malých dávkách, které napomáhají jiným fyziologickým systémům k efektivnímu fungování. Například určitá hladina tohoto hormonu je nutná pro dobré působení katecholaminů na kardiovaskulární systém (např. indukují vazokonstrikci, zvyšují srdeční frekvenci aj.) (Dickerson & Kemeny 2004).

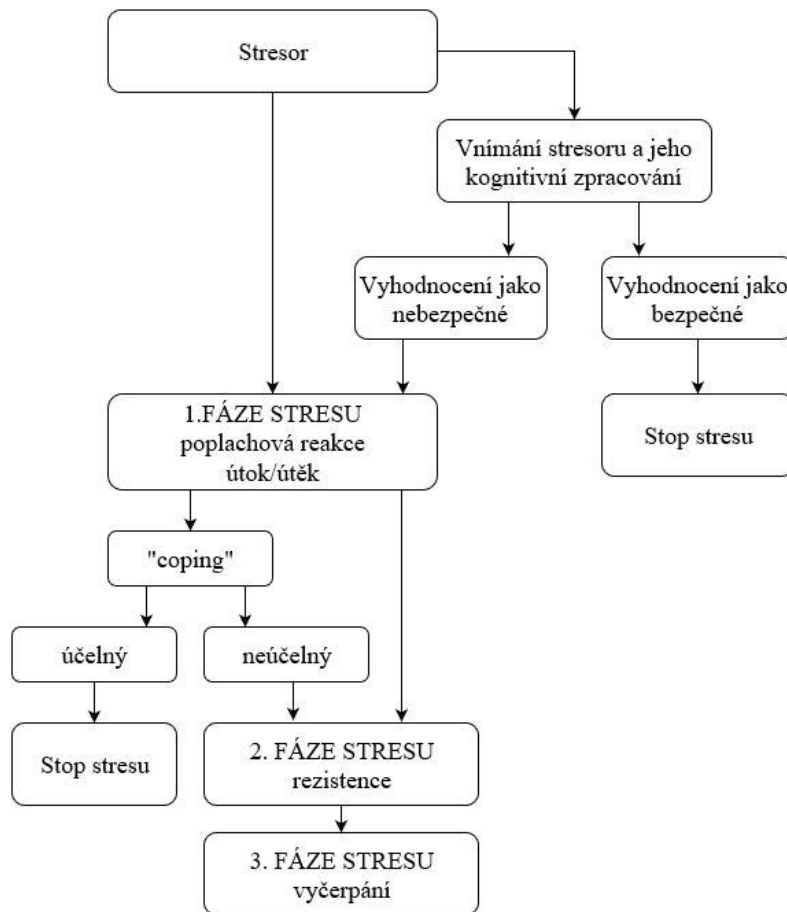
System HPA je také spojen s důležitými kognitivními a afektivními procesy, které mohou mít vliv na zdraví i nemoc. Zvýšená aktivita HPA je spojena s depresivní symptomatologií a může mít účinky také na paměť (Heim & Nemeroff 1999; Buchanan & Lovallo 2001).

Pro hodnocení chronického stresu je k dispozici široká škála možných parametrů odvozených od reakcí na akutní stres. U psů (stejně jako i u jiných druhů) je akutní stres doprovázen zvýšenou aktivitou SAM systému a HPA systému. (Pagani et al. 1991) Osa SAM zprostředkovává známou reakci „fight or flight“, počáteční a rychlou reakci na okamžitý stres. Aktivace sympatického nervového systému a následné uvolňování katecholaminů (adrenalinu a noradrenalinu), ze sympatických nervových terminálů a adrenální meduly, vytváří stav fyziologické připravenosti na odpověď. Mezi projevy aktivace SAM osy patří zvýšená srdeční frekvence, zvýšený krevní tlak, vazokonstrikce kůže, rozšíření očních žíleček a zvýšení krevní glukózy a volných mastných kyselin (Romero & Butler 2007). Stejně jako v situacích akutního stresu může chronický stres vést ke zvýšené centrální stimulaci HPA osy, což vede ke zvýšení sekrece kortizolu (primárního glukokortikoidu psů), který může i nemusí být udržován (Keller-Wood & Dallman 1984).

Stres moduluje imunokompetenci, což může vést ke zvýšené náchylnosti k onemocnění (Madden & Felten 1995). Díky tomu může změněná imunitní odpověď indikovat časný stav stresu, který může snadno poukazovat na prokazatelně špatné welfare. Proto imunologické testy mohou dobře sloužit jako ukazatele welfare zvířat. Odpovědi periferních leukocytů během stresu typicky zahrnují neutrofilii a lymfopenii a vyskytují se podobně u chronicky stresovaných lidí, opic, veverek a dalších druhů zvířat (McKinnon et al. 1989). U psů se během akutního stresu vyskytuje obecná leukocytóza, neutrofilie, lymfopenie a eozinopenie, avšak dosud se neví, zdali je to u chronického stresu stejné (Kuhn et al. 1991).

Jednotlivé fáze stresu podle Večeřová-Procházková & Honzák (2008):

1. poplachová fáze: zvýšená produkce katecholaminů (nárůst glukokortikoidů, somatotropinu, mineralokortikoidů), odbourávání glykogenu ve svalech a játrech (vznik glukózy), odbourávání bílkovin a tuků, pokles lymfocytů, retence vody a solí
2. fáze rezistence a adaptace: zvýšená produkce glukokortikoidů, glukoneogeneze (syntéza glukózy v játrech), odbourávání bílkovin, protizánětlivé reakce
3. fáze vyčerpání: vyčerpání veškerých rezerv, kumulace produktů vzniklých odbouráváním bílkovin (Graf č. 1)



Graf č. 1: Fáze stresu (Večeřová-Procházková & Honzák 2008)

### 3.1.2.1 Ochranné a škodlivé účinky středních mediátorů

Existují 2 hlavní aspekty reakce na stres. Jedním z nich je reakce těla na množství zkušeností tím, že uvolňuje chemické mediátory, například katecholaminy, které zvyšují srdeční frekvenci a krevní tlak. Tito zprostředkovatelé podporují adaptaci na akutní stresor, stejně jako na jednoduché úkony. Naproti tomu může nastat chronický vzrůst těchto mediátorů a způsobit tím např. chronické zvýšení krevního tlaku, patofyziologické změny v kardiovaskulárním systému, které časem vedou k patofyziologickým stavům jako je ateroskleróza, což může vyvrcholit mrtvicí či infarktem myokardu (McEwen 1998).

Kvůli paradoxní činnosti těchto mediátorů (které chrání ale i poškozují organismus) a také kvůli nejednoznačné konotaci termínu stres, představili Sterling & Eyer (1988) termín alostáza. Tento termín se vztahuje na aktivní proces, kterým organismus reaguje na každodenní události a zajišťuje homeostázu (alostáza doslova znamená dosažení stability prostřednictvím změn). Vzhledem k tomu, že chronicky zvýšená alostáza může vést k patofyziologii, zavedl se

termín alostatické zatížení nebo přetížení, který odkazuje na opotřebení. Toto opotřebení vyplývá buď z přílišného stresu, nebo z neefektivní správy alostázy (jako třeba vypnutí její odezvy, když už není potřeba).

Kromě adrenalinu a noradrenalinu existuje velké množství dalších mediátorů, které se účastní alostázy. Regulace těchto mediátorů je síťově propojena. Toto propojení je nelineární což znamená, že každý prostředník má schopnost regulovat činnost ostatních mediátorů. Například glukokortikoidy produkované adrenální kůrou v reakci na ACTH z hypofýzy jsou, jak už bylo zmíněno, jedním z hlavních stresových hormonů. Pro i protizánětlivé cytokiny jsou produkovány velkým množstvím buněk, a navzájem se regulují, nebo jsou naopak regulovány glukokortikoidy a katecholaminy. Tedy zatímco katecholaminy mohou zvýšit produkci zánětlivých cytokinů, glukokortikoidy tuto produkci inhibují (Bierhaus et al. 2003). Důležitou regulační roli v této nelineární alostatické síti má také parasympatický nervový systém, který zpomaluje srdeční činnost a má protizánětlivé účinky (Borovikova et al. 2000). Nelinearita v systému způsobuje, že když se některý z mediátorů zvýší nebo sníží, nastanou kompenzační změny v ostatních mediátorech, které závisí na časovém průběhu a úrovni změn každého z mediátorů. Biomedicínské technologie v současné době bohužel nedokážou měřit všechny součásti tohoto systému současně a musí se spoléhat pouze na několik z nich. Tedy při práci s výsledky se musí pamatovat na jejich nelinearitu (Thayer & Lane 2000).

Mozek je hlavním regulátorem neuroendokrinního, autonomního a imunitního systému a také je odpovědný za řízení chování. Hipokampus byl jako první uznán za centrum stresových hormonů, a proto je významný v chápání toho, jak stres ovlivňuje strukturu mozku a chování. Hipokampus má vliv na proces stárnutí, ovlivňuje také pozitivní i negativní dopad stresu na paměť a také postupné změny struktury hipokampu a jeho funkce spojené s dlouhodobým nebo opakovaným stresem (McEwen 2007).

Změny mozkové funkce chronickým stresem mohou mít přímé a nepřímé účinky na kumulativní alostatické přetížení. Například zkrácená doba spánku může být spojována se zvýšenou tělesnou hmotností a obezitou (Gangwisch et al. 2005). Omezení spánku na 4 hodiny za noc zvyšuje krevní tlak, snižuje parasympatický tón, zvyšuje večerní hladinu kortizolu a inzulinu a také zvyšuje chuť k jídlu, pravděpodobně díky zvýšení ghrelinu, proapetitivního hormonu, souběžně se sníženou hladinou leptinu (Spiegel et al. 1999). Navíc při spánkové deprivaci se zvyšuje hladina prozánětlivých cytokinů, a to i při mírném omezení spánku na 6 hodin za noc (Vgontzas et al. 2004). Dalším účinkem spánkové deprivace je regulace hladiny glykogenu, který se nachází převážně v bílé hmotě. U potkanů, kterým nebyl spánek umožněn po dobu 24 hodin, klesla hladina glykogenu až o 40 %. Přitom glykogen v astrocytech je

schopen při nedostatku glukózy udržovat axonovou funkci v bílé hmotě centrální nervové soustavy (Wender et al. 2000).

Alostatické zatížení způsobené chronickým stresem způsobuje u zvířecích modelů atrofii neuronů v hipokampu, prefrontální kůře a v mozkových oblastech, které se zabývají pamětí, pozorností a výkonnostními funkcemi. Také způsobuje hypertrofii neuronů v amygdale, mozkové oblasti, která se účastní strachu, úzkosti i agrese (McEwen & Chattarji 2004). Tedy schopnost učit se, zapamatovat si a přijímat rozhodnutí může být ohrožena chronickým stresem a může být doprovázena zvýšenou hladinou úzkosti a agrese (Guzman-Marin et al. 2003).

Akutní a opakovaný stres také způsobuje funkční a strukturální změny v jiných oblastech mozku jako je prefrontální kůra (kortex) a amygdala. Strukturální remodelování v prefrontální kůře způsobené chronickým stresem zhoršuje pozornost a reakce zvířete (Liston et al. 2006). Chronické zátěžové napětí a imobilizace způsobují dendritické zkrácení v mediální prefrontální kůře a dendritický růst neuronů v amygdale (Vyas et al. 2002). Chronický stres trvajícím po dobu 21 dní, který způsobuje změny na amygdale, nepoškozuje pouze kognitivní funkci závislou na hipokampu (McEwen 1999), ale také vede k větším úzkostem a častějšímu neopodstatněnému strachu (Conrad et al. 2004). Chronický stres také zvyšuje agresivitu mezi zvířaty žijícími ve stejné kleci, což pravděpodobně odráží aspekt nadměrné aktivity amygdaly (Wood et al. 2003).

### **3.1.3 Stres v přírodě**

Činnost alostázy v přírodě poskytuje určitý pohled na to, jak zvířata využívají tuto reakci ve svůj prospěch nebo ve prospěch svého druhu. Příkladem alostázy může být sněhová bouře na jaře, která způsobuje stres u ptáků a narušuje jejich páření. Stresové hormony mají stěžejní roli v řízení reprodukce ptáků. V případě bouře nutí tyto hormony ptáky, aby zastavili reprodukci, našli zdroj potravy, přemístili se na lepší místo a odložili tím reprodukci, dokud nenastanou vhodnější podmínky (Wingfield & Romero 2001). Příkladem alostatického zatížení může být také příprava medvědů na zimní hibernaci. Požívají velké množství potravy, ukládají tělesný tuk, aby následně sloužil jako zdroj energie (Nelson 1980). Na druhou stranu se akumulace tuků objevuje také u medvědů v zoologických zahradách, kteří přijímají velké množství potravy, často z nudy, aniž by měli dostatek pohybu (McEwen & Wingfield 2003). Za těchto podmínek může být akumulace tuku označována za alostatické přetížení.

Alostatické přetížení může mít také pozitivní účinky pro zachování druhu. Například migrující lososi, kteří plují proti rychle tekoucím řekám do místa jejich tření, jsou vystaveni nadměrnému zatížení, které způsobuje jejich rychlejší stárnutí a potlačení funkcí imunitního

systemu. Lososi následně uhynou, což může být výhodou pro nastávající generace, které mají lepší přístup ke zdrojům potravy (Farrell 2002).

### 3.1.4 Klasifikace a příčiny stresu

Stres lze klasifikovat různými způsoby. V kapitole 3.1 jsme si již definovali rozdíl mezi eustresem a distresem. V této kapitole si nastíníme další možnosti, jak můžeme stres klasifikovat. Často se setkáváme s rozdělením na stres akutní a chronický. V laboratorním prostředí je akutní stres rozlišován dobou trvání, která je kratší než jedna hodina (Dhabhar 2009), kdežto chronický stres často přetrvává po dobu 4–5 dnů, i když chronický psychosociální stres u lidí může trvat roky (Hänsel et al. 2010). Tyto definice se liší od klinického vnímání akutního a chronického onemocnění, u kterého může být onemocnění trvajícím až několik týdnů stále považováno za akutní (Depke et al. 2009).

Výraz „stres“ zahrnuje několik různých pojmů: fyziologický stres, nefyziologický stres nebo psychogenní stres a strach (Ward et al. 2008). Fyziologický stres popisuje vystavení pozitivním nebo negativním fyzickým výzvám, které narušují homeostázu těla. Ve veterinárním prostředí může být negativní fyziologický stres vyvolán systémovým onemocněním, traumatem nebo chirurgickým zákrokem. Psychogenní stres pravděpodobně popisuje expozici psychologickým nebo společenským výzvám, které vedou k narušení psychické pohody. Negativní psychogenní stres u domestikovaného zvířete může být vyvolán oddělením od pečovatele, podrobením invazivním procedurám bez přítomnosti známé osoby, nebo vystavení novému prostředí (Siracusa et al. 2008). Pozitivní psychogenní stres byl studován méně, ale může být chápán tak, že odkazuje na situace, jako je například shledání se s opatrovníkem nebo zapojení do očekávané hry. Fyziologický i psychogenní stres jsou běžnou součástí života a tělo a mysl se přizpůsobují pro udržení normální funkce (Sapolsky et al. 2000). Stres se stává strachem, když tělo nemůže obnovit homeostázu a čelit nepřekonatelnému fyziologickému stresu, nebo když nezvladatelný psychogenní stres ohrožuje duševní pohodu (Ward et al. 2008).

Psychogenní stresory mohou být klasifikovány jako sociální/nesociální (Sgoifo et al. 1999) nebo kontrolované/nekontrolované (Dess et al. 1983). Společenské stresové stavy zahrnují nepříznivé interakce s nepřátelskými jedinci stejného druhu, jako jsou agresivní psi v jiných klecích nebo separace od známé osoby. Naproti tomu nesociální stresory zahrnují vystavení nepříznivým podmínkám prostředí, kam můžeme zařadit zvýšenou hladinu hluku. Nekontrolovaný stresor neumožňuje zvířeti před ním uniknout. Může se jednat o zásah



elektrickým proudem, nebo nevyhnutelnou lékařskou proceduru. Kontrolovaný stresor umožňuje zvířeti nějakou cestu úniku, například ústup do zadní části klece. Všechny tyto typy stresorů mohou být přítomny ve veterinárním prostředí (Hekman et al. 2014).

Různé stresory způsobují různé úrovně aktivace metabolických a endokrinních odpovědí u laboratorních zvířat (Dickerson & Kemeny 2004) a mohou mít např. u hospitalizovaných zvířat i různé důsledky. Například u potkanů sociální stres aktivuje sympatický nervový systém silněji než nesociální stresory (zádržné a šokové) (Sgoifo et al. 1999). Také je pravděpodobné, že nekontrolované stresory aktivují stresovou odezvu silněji než kontrolované stresory. Toto bylo testováno u psů, kteří byli vystaveni elektrickému proudu s možností uniknout nebo bez této možnosti (Dess et al. 1983).

### **3.1.5 Vztah mezi stresovou odpovědí a imunitním systémem**

Existuje komplexní kooperace mezi stresovou odezvou a imunitním systémem, která se mění podle délky trvání stresoru (akutní nebo chronický), načasování (před nebo po imunitním vyčerpání) a typu stresoru (sociální nebo nesociální, kontrolovatelný nebo nekontrolovatelný). Počáteční reakce na psychogenní stres nebo stres během nemoci je často imunologická a protizánětlivá (Segerstrom & Miller 2004). Akutní stres zvyšuje citlivost T lymfocytů a jejich diferenciaci na T helper 1 (Th1) nebo T helper 2 (Th2) (Elenkov 2004). Zvýšená endogenní produkce glukokortikoidů spojená s akutním stresem může vést ke „stresovému leukogramu“, který je charakterizován periferní neutrofilii, lymfopeniemi, eosinopenií a monocytózou v důsledku redistribuce a zvýšenému zániku i vzniku bílých krvinek (Palsgaard-Van Lue et al. 2007). Také se mohou zvýšit počty cirkulujících buněk, které jsou přirozenými zabíječi, a hladina pro i protizánětlivých cytokinů. Společně tyto změny připravují imunitní systém na blížící se zátěž, kterou může být mikrobiální invaze (Steptoe et al. 2007).

S přibývajícím časem se z akutního stresoru stává stresor chronický a účinky stresové reakce na imunitní systém se mohou měnit a místo zvyšování a povzbuzování jeho odpovědi dochází k jeho potlačování. Glukokortikoidy nevhodně potlačují odpověď Th1 a zvyšují odpověď Th2 (Elenkov 2004). Chronický stres může být také spojen s leukopenií a sníženou kapacitou fagocytů u leukocytů (Kiank et al. 2006).

Pokud je aktivace stresové reakce zvýšena nebo prodloužena, může dojít k nevhodné imunosupresi (Kiank et al. 2007). Například u lidí může imunosuprese vyvolaná chronickým stresem vést ke zvýšené náchylnosti k infekci a neoplazím a ke snížené odpovědi na vakcinaci (Glaser & Kiecolt-Glaser 2005).

### 3.1.5.1 Náchylnost k sepsi

Stres může ovlivnit náchylnost zvířete k sepsi. Při sepsi dochází k přehnané systémové reakci na infekci, která vede ke zvýšené mortalitě a může být více škodlivá než původní infekce (Avitsur et al. 2009). Studie na myších ukazují, že zvýšená koncentrace glukokortikoidů v důsledku psychogenního stresu, může poskytnout ochranu proti sepsi, protože glukokortikoidy mají imunosupresivní účinky. Nebo naopak při dlouhodobém vystavení se může vytvořit proti glukokortikoidům rezistence a náchylnost k sepsi se zvýší. To všechno se děje v závislosti na účincích různých typů stresoru (Remer et al. 2008).

### 3.1.5.2 Gastrointestinální systém

U lidí i laboratorních zvířat bylo prokázáno, že stres může indukovat výskyt žaludečních vředů, zejména ve spojení s patogeny, jako jsou *Helicobacter pylori*, nebo nesteroidními protizánětlivými léky (Caso et al. 2008). Psi, u kterých dochází k vysokému fyziologickému stresu (například fyzická námaha při závodech v tahu saní) jsou vystaveni zvýšenému riziku vzniku žaludečních lézí (Davis et al. 2003).

### 3.1.5.3 Kardiovaskulární systém

Účinky psychogenního stresu jsou nebezpečné pro funkci kardiovaskulárního systému lidí i laboratorních zvířat. Akutní psychogenní stres je spojen s hyperkoagulací a trombózami u lidí (Von Känel et al. 2003). Chronický psychogenní stres také zvyšuje riziko výskytu kardiovaskulárních onemocnění, a je navíc spojen s onemocněním koronární arterie, hypertenzí, a se zvýšenou morbiditou a mortalitou (Dimsdale 2008).

## 3.1.6 Odolávání stresu (Coping)

Psychosociální faktory mají zásadní vliv na zdraví či onemocnění jak u člověka, tak u zvířat. Nejedná se ovšem pouze o fyzické vlastnosti určitého obranného stimulu, ale o kognitivní posouzení stimulů, které rozeznají jejich obranný charakter a určí, zda se jedná o stres (Ursin 1998). Termín odolávání stresu můžeme vysvětlit jako fyziologické úsilí zvládnout nastalou situaci (Wechsler 1995). Úspěšné vyrovnání se stresem je závislé na

kontrolovatelnosti a předvídatelnosti stresoru. Je zřejmé, že každý jedinec má jiné schopnosti odolávat stresu. Mezi faktory ovlivňující tyto schopnosti patří genotyp, vývoj, zkušenosti, sociální podpora a další (Olf et al. 1993). Vzhledem k tomu, že zvládání stresu může mít vliv na zdraví jedince, byla snaha zjistit individuální schopnosti jedince stres zvládnout. Jeden z vědeckých přístupů byl postaven na klasifikaci odpovědí do odlišných způsobů, jak se se stresem vypořádat (Coping styles). Coping styles mohou být definovány jako soudržný soubor chování a fyziologických reakcí na stres, který je v určitém časovém horizontu charakteristický pro určité skupiny jedinců. Je pravděpodobné, že coping styles byly formovány v průběhu evoluce a byly vytvářeny obecné adaptivní vzorce chování v reakci na každodenní problémy v přirozené lokalitě. Pojem coping styles byl použit v celé řadě živočišných druhů (Jensen et al. 1995).

Na základě výzkumu sociálního stresu zvířat rozlišili Henry & Stephens (1977) dva vzorce zátěžové reakce. První typ, aktivní reakce (proaktivní), je v podstatě bojová reakce. Behaviorálně je aktivní reakce charakterizována teritoriální kontrolou a agresí. Druhý typ reakce popsali Engel & Schmale (1972) a nazvali ji reakcí pro zachování (reaktivní), která je charakterizována nehybností a nízkou úrovní agrese. Koolhaas et al. (1999) došli ve svých výzkumech k několika závěrům. Zaprvé, individuální úroveň agresivního chování souvisí se způsobem, jakým zvířata reagují na široké množství problémů z jejich prostředí. Zadruhé, u agresivnějších samců se spíše setkáme s proaktivním typem reakce, zatímco u méně agresivních samců se více projevuje reakce reaktivní, přičemž reaktivní samci jsou více adaptivní a flexibilní, tedy reagují jen tehdy, je-li to nezbytně nutné. Coleman & Wilson (1998) připsali proaktivním jedincům přízvisko odvážní a reaktivním jedincům přízvisko plaší. Odvážní rozvíjejí rutiny, aby se lépe vypořádali s různými nároky, zatímco plaší si zachovávají ve svém chování větší flexibilitu (Verbeek et al. 1996). Strategie, které jsou uplatňovány pro vyrovnání se se stresem nejsou ovlivňovány pouze osobnostními faktory, ale také učením a výchovou (Weiss et al. 2004).

Psi jsou v rámci lidské společnosti využíváni pro řadu funkcí, které je vystavují mnoha situacím zahrnujícím sociální stres (enviromentální výzvy). Velice významně se to projevuje u psů pracujících pro policii. Tito psi byli vycvičeni, aby se zabývali lidskými agresory a prchajícími pachatelé. Ke zvýšení výkonnosti psa během tréninku přispívají jeho specifické osobnostní rysy, které byla snaha prostudovat (Svartberg 2002).

Ve studiích (Beerda et al. 1998; Bergeron et al. 2002; Dreschel & Granger 2005) byli psi vystavováni různým formám nesociálního stresu, které obsahovaly vystavování silnému hluku, elektrickému šoku, simulované bouře, děsivým objektům a přepravě. Po takové stimulaci

vykazovali psi zvýšenou koncentraci kortizolu, která korelovala s charakteristickým chováním jako je nízké postavení těla, zvedání tlapy, olizování čenichu a dalším. Toto chování může být považováno za projev stresu. Avšak také lidé jsou často příčinou stresu u psa. V experimentálních situacích Netto & Planta (1997) a Weisse & Greenberga (1997) bylo lidské chování, které zahrnovalo fyzickou sílu způsobující mírnou bolest, příčinou stresu psa. Psi byli také vystaveni cizí osobě, která se k nim dostala způsobem vyvolávajícím pocit ohrožení (Svartberg 2002; Vas et al. 2005). Variabilita chování psů vůči cizinci byla značně vysoká. Někteří psi se chovali přátelsky nebo pasivně, což naznačovalo toleranci k cizincům. Jiní se interakci s cizincem vyhýbali, nebo zahájili protiútok. Vas et al. (2005) uvádějí, že za tímto stojí rozdíly v plemenech. Belgičtí ovčáci projevili více hrozeb a zřídka vykazovali přátelské chování na rozdíl od saňových psů a retrívrů.

Ve studii Horváth et al. (2007) byli zkušeni policejní psi (z kategorie hlídkoví a obranní) plemene německý ovčák vystaveni člověku, který pro ně představoval nebezpečí a pozorovalo se jejich chování a strategie vyrovnávání se se stresovou situací. V průběhu experimentu se měřila koncentrace kortizolu ve slinách psů a jeho zvýšená hladina prokázala, že napříč všemi skupinami (rozdílné pohlavím, věkem) byla situace pro psy stresová. Analýza Horváth et al. (2007) identifikovala 3 behaviorální skupiny. První skupina se vyznačovala vystrašeným chováním, vyhýbání se cizincovi a zvýšenou náklonností k psovodovi a byla označena jako „strach“. Do druhé skupiny bylo zařazeno chování, které souviselo s útokem na cizince a byla označena jako agresivně-dominantní. Třetí skupina, která nebyla dříve popsána, zahrnovala ambivalentní nerozhodný vnitřní stav. Psi v první skupině vykazovali nejvýraznější projevy „strachu“. Byli nejméně aktivní a měli nejdelší latenci útoků. Na druhou stranu, byla u první skupiny zaznamenána i poměrně vysoká hladina agresivity. Tento zdánlivý rozpor může být způsoben jejich policejním výcvikem. Je pravděpodobné, že jejich tréninková zkušenost způsobila, že se v napjatých situacích chovají odvážně, v rozporu s jejich původně plachým charakterem, který byl odhalen hormonálními změnami během experimentu (Schjolden et al. 2005). Psi ve druhé skupině, charakterizováni vysokou agresivitou, měli během nastalé situace menší strach a nižší hladinu kortizolu v krvi během i po skončení stresové situace. Reagovali na přibližujícího se člověka s nejkratší latencí a koncentrace hormonů se během ohrožování cizincem nějak výrazně neměnila i když by se dal předpokládat projev eustresu. Ve třetí skupině, kde psi projevovali ambivalentní chování (když byl člověk ještě relativně daleko, byli psi aktivní a štěkali; po přiblížení člověka se psi stáhli a projevovali se zvedáním tlapy), bylo zvýšení hladiny kortizolu nejvýznamnější. Ačkoliv to vypadalo, že první skupina byla nejstresovanější, největší stresová reakce se prokázala u psů třetí skupiny. Avšak výsledky

ukázaly, že tento jev také ovlivňují endogenní i exogenní faktory. Mezi tyto faktory můžeme řadit fakt, že hladina kortizolu byla nejvyšší u starých psů (ne dospělých), což může naznačovat paralelu s lidmi. U starých lidí vystavených nenadálé situaci byla díky meta-analýze také prokázána vyšší hladina kortizolu (Otte et al. 2005). Dalším faktorem, který musel být zohledňován je fakt, že koncentrace kortizolu byly v ranních hodinách vyšší než v odpoledních, což je v souladu s výzkumem Beerdy et al. (1996).

### **3.1.7 Vliv domestikace na vnímání stresu**

Domestikované druhy ve srovnání s jejich původními divokými druhy vykazují větší nebojácnost, zvýšenou sociální toleranci a zvýšenou odolnost vůči stresu (Driscoll et al. 2009). Tyto behaviorální změny jsou úzce spjaty se souborem fyziologických a morfologických změn včetně snížené hormonální reaktivity na stres, zkrácení lebky, zkroucení ocasu a bílých znaků ve zbarvení. Celkově se tyto změny označují jako „domestikační syndrom“ (Wilkins et al. 2014). Hekman (2017) zkoumala rozdíly v regulaci HPA osy na liškách, které byly selektivně šlechtěny na krotkost nebo agresi. Bylo prokázáno, že aktivita této osy byla u krotkých lišek ve srovnání s agresivními výrazně snížena a také byla výrazně snížena odpověď hormonů ACTH a kortizolu na stresor. Analýza RNA z hypofýzy odhalila expresní rozdíly v genech souvisejících s exocytózou a buněčnou signalizací, analýza RNA nadledvin identifikovala rozdíly v mechanismech, které kromě genů souvisejí se syntézou mastných kyselin a cholesterolu. Mastné kyseliny a cholesterol (prekurzory kortizolu) mohou mít při regulaci HPA osy větší význam než syntéza samotného kortizolu.

## **3.2 Glukokortikoidy**

Jako fyziologický mechanismus není stres sám o sobě špatný. Klíčovými hormony jsou při stresové reakci glukokortikoidy, které mohou být uvolňovány v reakci na situace, které nejsou za normálních okolností považované za stresové, včetně námluv, kopulace a lovu. Navíc hormony, které se zvyšují během stresového období, jsou také součástí hormonální kaskády způsobující porod u některých druhů (Broom & Johnson 1993). Během krátkodobého stresu zlepšují glukokortikoidy fitness díky mobilizaci energie organismu a mohou změnit chování. Naopak stálý, chronický stres (prodloužené období vysoké koncentrace kortizolu) může snížit

individuální fitness, která vede k imunosupresi a atrofiím tkání (Munck et al. 1984). Navíc se také snižuje reprodukční úspěch jednice (Broom & Johnson 1993).

### **3.2.1 Způsoby stanovení glukokortikoidů**

Koncentrace glukokortikoidů se nejčastěji měří z krve. Tato na první pohled jednoduchá metoda má ale svá úskalí, protože samotný odběr krve může být pro zvíře stresující a výsledek tím může být ovlivněn (Terlouw et al. 1997). Stejně jako mnohé další hormony mají glukokortikoidy cirkadiální rytmus, a proto je potřeba vzorky pro stanovení koncentrace glukokortikoidů odebírat často (De Jong et al. 2000).

Jak už bylo zmíněno, odběr vzorků, který zahrnuje manipulaci zvířat nebo jejich fixaci, může být samo o sobě stresující a může ovlivnit výsledky. Proto se začaly vyvíjet neinvazivní postupy odběru vzorků pro stanovení kortizolu (metabolitu) v moči, slinách nebo v mléce. Avšak stále jsou velké nedostatky týkající odběru slin nebo sběru moči, protože pro získání těchto vzorků je také potřeba manipulovat se zvířaty a tato metoda může být použita pouze v omezené míře u volně se pohybujících zvířat. Odběr mléka je omezen pouze na zvířata v laktaci (Cook et al. 2000). Naproti tomu vzorky stolice nabízejí tu výhodu, že mohou být snadno získány bez toho, aby tím byla zvířata stresována. Toho se využívá hlavně u volně žijících zvířat (Schwarzenberger et al. 1996).

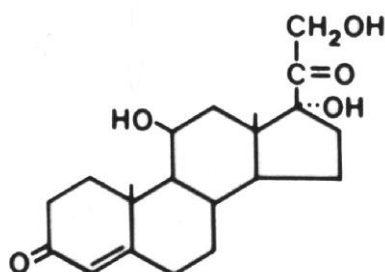
### **3.2.2 Negativní vliv glukokortikoidů**

Periferně cirkulující glukokortikoidy, kortizol a kortikosteron, poskytují během stresové reakce negativní zpětnou vazbu (Romero & Butler 2007). Jejich dlouhodobě zvýšená hladina je spojena s řadou negativních účinků na biologický a zdravotní stav včetně negativního vlivu na imunitní systém (např. snížená proliferace lymfocytů a snížená produkce cytokinů). Také poškozují neurony hipokampu a podporují vývoj některých chronických onemocnění (např. diabetes, hypertenze) (Boomershine et al. 2001). Další poškození v důsledku dlouhodobě zvýšené hladiny glukokortikoidů se projevuje zejména úbytkem svalové hmoty (v důsledku negativní dusíkaté bilance), zvýšením tlaku, diabetogenním narušením regulace metabolismu glukózy atd. Kortizol inhibuje zánětlivé procesy, a to především aktivitu makrofágů. Celkové oslabení imunitního systému těla vede ke zvýšené vnímavosti k infekcím a k nádorovému bujení. Avšak jedním z nejhorších důsledků chronického stresu je úbytek neuronů, protože mozkové buňky pod vlivem stresu odumírají znatelně rychleji. Pozitivním ale je, že pod vlivem

tělesného cvičení, které navozuje eustres, dochází k podpoře neurogeneze, tedy dochází k obnovování mozkových buněk (Večeřová-Procházková & Honzák 2008). Glukokortikoidy ovlivňují velké množství metabolických procesů včetně metabolismu bílkovin, glukózy a mastných kyselin a imunitní funkce (Remer et al. 2008) a mohou indukovat katabolický stav (Wray et al. 2002).

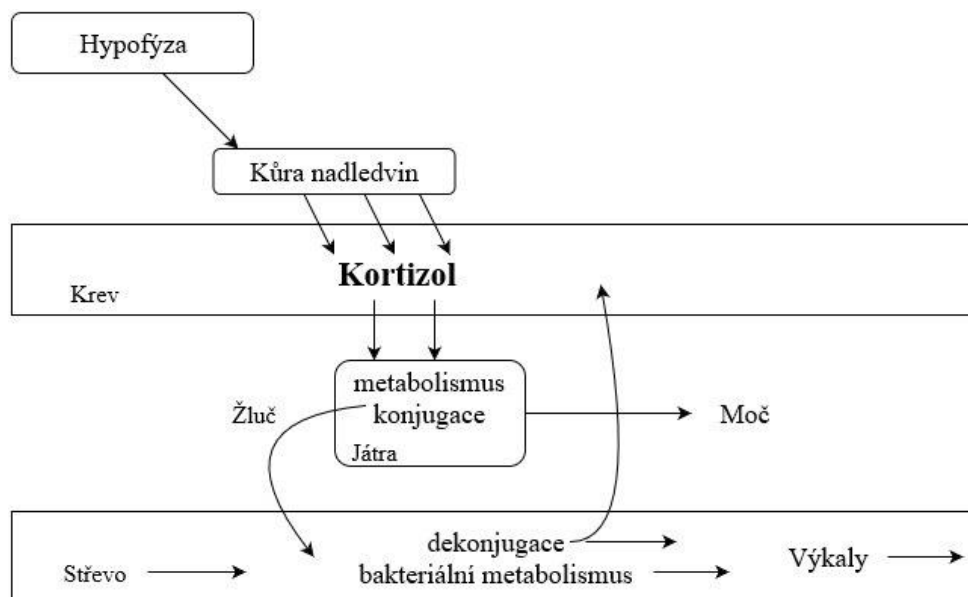
### 3.2.3 Kortizol

Kortizol je hlavní hormon glukokortikoidů, který je produkován kůrou nadledvin. Jedná se o lipofilní steroid (obr. č. 1) s nízkou molekulovou hmotností ~ 362 Daltonů (Kirschbaum & Hellhammer 2000). Je uvolňován spontánně, ale také v reakci na různé biochemické činitele a psychosociální podněty (Van Cauter 1987). Po vyloučení je přibližně 90 % endogenního hormonu vázáno na krevní nosiče globulinu, které vážou kortikosteroidy a nosiče albuminu, zatímco pouze 5–10 % kortizolu cirkuluje v nevázané formě. Vzhledem k nízké molekulové hmotnosti a lipofilnímu charakteru nenávaného kortizolu, vstupuje kortizol do buněk pasivní difuzí, což umožňuje měřit volnou frakci ve všech tělesných tekutinách (Kirschbaum & Hellhammer 2000). Globulin má vysoce afinitní receptory, které váží 70–85 % celkového kortizolu, zatímco albumin váže pouze 10 – 15 % celkového kortizolu, protože má vazebné struktury s nízkou afinitou (Kirschbaum & Hellhammer 1989). Hiramatsu & Nisula (1988) prokázali, že kortizol je také značně vázán na membrány erytrocytů. Autoři odhadují, že podíl kortizolu přenášeného červenými krvinkami se rovná volné frakci plazmatického hormonu. Jedná se pouze o druhou frakci, která je považována za biologicky aktivní (Ekins 1990). Tedy pouze 5–10 % celkového kortizolu působí na cílové tkáně, což vede k širokému spektru fyziologických účinků, jelikož prakticky všechny tělní buňky jsou ovlivněny kortizolem (Bondy 1985).



Obr. č. 1: Molekula kortizolu (Kirschbaum & Hellhammer 2000)

Metabolismus kortizolu nebyl u různých druhů zvířat plně prozkoumán. Přeměna kortizolu zahrnuje konjugaci s kyselinou glukuronovou a redukci kortizolu na tetrahydrokortizol a tetrahydrokortizon a tvorbu kruhových nenasycených steroidů (Brownie 1992). Metabolismus a exkreci glukokortikoidů zkoumal v roce 1972 Lindner. Pomocí infuze vpravil do těla několika ovcí radioaktivní formu kortizolu. Dvě třetiny radioaktivity byly následně nalezeny ve žluči. Dále pozoroval enterohepatální cirkulaci metabolitů kortizolu (glukuronidy tetrahydrokortizolu, tetrahydrokortizonu a steroidy androstany) a tyto metabolity byly vyloučeny výkaly. Pro vyšetření procentuálního vylučování kortizolu močí a stolicí hospodářských zvířat, aplikoval Palme et al. (1996) intravenózní infuzi radioaktivního kortizolu do ovcí, poníků a prasat. Následně byla měřena radioaktivita moče a výkalů. Mezi jednotlivými druhy byly zaznamenány vysoké rozdíly v množství a časovém průběhu. Nejvyšší radioaktivita v moči byla zaznamenána krátce po aplikaci infuze, zatímco ve stolici byly maximální koncentrace pozorovány přibližně 12 hodin (ovce), 24 hodin (poníci) a 48 hodin (prasata) po infuzi. Převládající vylučovací cesta byla močí; u ovce 72 %, poníka 59 % a prasete 93 % (Graf č. 2).



Graf č. 2: Metabolismus kortizolu (Möstl & Palme 2002)

### 3.2.3.1 Sekrece kortizolu v cirkadiánním rytmu

Stejně jako většina hormonů není kortizol vylučován z kůry nadledvin kontinuálně ale v několika vlnách během dne. V klidovém stádiu je typické kolem 15 vln během 24 hodin.



U zdravých jedinců je kůra nadledvin stimulována a inhibována způsobem „on-off“, tedy sekreční periody jsou následovány neaktivitou žlázy (Van Cauter 1987). Tento vzorec sekrece kortizolu je regulován dvěma protichůdnými mechanismy (systém zpětné vazby). Pulzní amplituda je nejvyšší v ranních hodinách a nízká večer, tedy jedná se o cirkadiánní rytmus sekrece kortizolu. Tento vzorec úzce souvisí s příslušnými změnami v plazmě (Kirschbaum & Hellhammer 1989).

### 3.2.3.2 Vztah mezi nevázaným kortizolem v krevní plazmě a kortizolem ve slinách

Jako každý jiný steroidní hormon je kortizol velmi dobře rozpustný v tucích. Pro svou nízkou molekulovou hmotnost může rychle difundovat přes buněčné membrány, které jsou bohaté na lipidy, prostřednictvím pasivní intracelulární difuze. Pomocí krevního řečiště je kortizol transportován do konce lalůček žláz, přes které může spolu s dalšími nekonjugovanými steroidy snadno přejít do slin. Z toho se dá usoudit tvrzení, že rychlost sekrece slin nemá žádný vliv na hladinu kortizolu ve slinách (Munck et al, 1984). Kahn et al. (1984) zkoumali koncentraci hormonu ve slinách při různých rychlostech sekrece. Ani maximální stimulace sekrece slin podáváním kyseliny citronové ani minimální sekrece slin po léčbě anticholinergickými léky, které způsobovaly sucho ústech, významně neovlivnily koncentraci kortizolu ve slinách.

Časové zpoždění mezi nárůstem plazmatického kortizolu a kortizolu ve slinách pozorovali Walker et al. (1984). Zjistili, že během první minuty po podání steroidů došlo ve slinách k významnému zvýšení hladiny kortizolu. Hodnoty píků ve slinách byly pozorovány 1-2 minuty po maximální koncentraci v krevní plazmě.

Ačkoliv je koncentrace hormonu paralelní s koncentrací volné frakce v plazmě, absolutní hodnota hladiny kortizolu ve slinách je ve srovnání s aktivními molekulami v krvi až o 50 % nižší. To se děje díky enzymu 11 $\beta$ -hydroxysteroiddehydrogenáze, který přeměňuje kortizol na kortizon, který je ve slinách přítomen ve velkém množství (Meulenberg et al. 1987).

## 3.3 Kvantifikace (měření) stresu

Měření míry stresu není jednoduché. Byly zkoumány jak fyziologické, tak behaviorální přístupy, oba však mají své nevýhody a výsledky mohou být pro interpretaci náročné. Teoreticky může být psychogenní stres objektivně hodnocen pomocí měření cirkulačních

koncentrací hormonů os SAM nebo HPA, nebo také pomocí vedlejších fyziologických parametrů, např. variabilita srdeční frekvence. V praxi se jeví jako nejlepší řešení používat pro měření více parametrů současně (Ward et al. 2008). Nejsou známa žádná fyziologická měření stresu, která by mohla sloužit jako specifický ukazatel distresu a odlišovat jej tak od eustresu. Toto měření je ztíženo kvůli několika faktorům, které charakterizují nejen reakci na stres, ale také funkci imunitního systému. Behaviorální měření stresu je podobně nespecifické jako fyziologické měření a je v mnoha ohledech ještě méně pochopeno (Hekman et al. 2014).

### 3.3.1 Fyziologické měření stresu

Do tohoto způsobu měření spadá pozorování HPA osy (nejčastěji měření kortizolu), slinného imunoglobulinu (Ig) A a poměru neutrofilů:lymfocyty (N:L). Každý z těchto způsobů má své výhody ale i úskalí, které budou popsány níže (Hekman et al. 2014).

#### 3.3.1.1 Osa HPA

Měření aktivity osy HPA se provádí prostřednictvím glukokortikoidů, konkrétně kortizolu a kortikosteronu. Tento způsob měření je nejrozšířenějším hormonálním měřením psychogenního stresu, běžně užívaným u lidí i psů (Hellhammer et al. 2009). U psů bylo prokázáno, že koncentrace kortizolu v plazmě, slinách nebo v moči výrazně vzrostla 15-30 minut po nástupu stresu (Vincent & Michell 1992). Vzhledem k tomu, že odběr krve je metodou mírně invazivní, mnoho zvířat vykazuje zvýšenou koncentraci kortizolu po imobilizaci a napíchnutí žíly. Nicméně u psů tento způsob měření hodnoty kortizolu neovlivní, pokud doba odběru nepřesáhne délku tří minut, nebo v případě odběru slin délku čtyř minut (Kobelt et al. 2003). Koncentrace slinného kortizolu je ukazatel nejčastěji využívaný ve výzkumech u psů, protože vykazuje silnou korelaci s plazmatickým kortizolem, je méně invazivní a nevyžaduje náročný trénink psovoda pro odběr slin (Hellhammer et al. 2009). Moč obsahuje nejen kortizol, ale také jeho metabolity a může být získávána neinvazivně. Poměr kortizol:kreatinin v moči poskytuje přehled o aktivitě osy HPA v průběhu několika hodin a je proto vhodnější pro měření chronického stresu (Schatz & Palme 2001).

Hodnocení aktivity osy HPA pomocí měření koncentrace kortizolu má několik omezení. Aktivita kortizolu odráží fyzické nebo psychické vzrušení a není tedy specifickým ukazatelem psychogenního nebo fyziologického stresu (Hellhammer et al. 2009). Aktivace HPA osy může také naznačovat eustres, nikoliv distres, a u psů je často aktivována ve psím parku (Ottenheimer et al. 2013), nebo u saňových psů před očekávaným závodem (Angle et al. 2009). Mezi

jednotlivými jedinci existuje vysoký stupeň variability koncentrací kortizolu, a tedy neexistují spolehlivé referenční rozsahy a bazální koncentrace musí být vyhodnoceny s ohledem na kontrolní skupinu (Palme et al. 2005). Kvůli denní variabilitě koncentrací kortizolu se doporučuje odběr vzorků stejného zvířete v několika dnech a také ve stejnou denní dobu, aby se zabránilo možné variabilitě v průběhu dne. Tyto vzorky mohou být ovlivněny každodenními zkušenostmi, včetně způsobu spánku, složení potravy a fyzické aktivity (Kolevska et al. 2003).

#### 3.3.1.2 Slinný imunoglobulin (Ig) A

Imunoglobulin (Ig) A, vyskytující se ve slinách, je dobrým ukazatelem stresu u lidí (Takahashi et al. 2009). U psů bylo dokázáno, že koncentrace tohoto imunoglobulinu negativně koreluje s koncentrací kortizolu a tento ukazatel byl použit k hodnocení akutního i chronického stresu (Skandakumar et al. 1995). Nevýhoda tohoto ukazatele tkví v tom, že se hladina slinného Ig A rychle mění a okamžitě po ukončení stresového vypětí se snižuje. Během dne tedy vykazuje časté změny a těžko se odlišuje psychogenní a fyziologický stres (Takahashi et al. 2010). Koncentrace slinného Ig A významně korelují s plazmatickými koncentracemi kortizolu a mohou podléhat obdobným změnám (Skandakumar et al. 1995).

#### 3.3.1.3 Poměr neutrofilů a lymfocytů (N:L)

Akutní i chronický stres souvisí s neutrofilii a lymfopenií. Zvýšený poměr N:L byl použit jako ukazatel stresu v humánních i veterinárních studiích včetně psů (Davis et al. 2008). Výhoda poměru N:L tkví v tom, že reakce má několikahodinové časové zpoždění od nástupu stresoru a je tedy možné i zpětně měřit hladinu stresu. Nevýhoda tohoto měření je stejná jako u měření koncentrace glukokortikoidů, tedy že nelze rozlišovat, jde-li o fyziologický či psychogenní stres. Navíc jde o metodu invazivní, protože pro analýzu je potřeba vzorek krve. Poměr N:L se vyznačuje menší variabilitou než koncentrace kortizolu, avšak v krátkodobém horizontu je méně citlivý na účinky velmi akutních stresorů (Davis et al. 2008).

#### 3.3.1.4 Srdeční frekvence a její variabilita

Aktivace sympatického nervového systému během psychogenního stresu vede ke zvýšení srdeční frekvence. Tento nárůst ale nemusí být pouze ukazatelem stresu, ale také může souviset se zvýšenou fyzickou aktivitou (Maros et al. 2008). Během stresové události dochází

k poklesu variability srdeční frekvence, jelikož srdeční frekvence zůstává převážně zvýšená. Tento ukazatel může být použit i při prokazování akutního stresu (Beerda et al. 1999). Měření proměnlivosti srdeční frekvence vyžaduje nepřetržité sledování, které se obvykle provádí pomocí připojení telemetrického zařízení (Maros et al. 2008). V ideální případě by psi měli být na používání telemetrických zařízení aklimatizováni, aby se zabránilo reakci na toto zařízení, která by mohla být zaměněna s reakcí na experimentální stresor (Beerda et al. 1998).

#### 3.3.1.5 Chromogranin A

Všechny v současné době dostupné metody měření stresu vykazují nedostatky a jsou potřeba nové metody hodnocení. Proto se stále bádá po jiných, lepších ukazatelích. Jedním z nich může být také chromogranin A (Srithunyarat et al. 2018).

Chromogranin A (CgA) se ukázal jako dobrým biomarkerem pro hodnocení stresu. Glykoproteiny CgA jsou součástí granulí feochromocytů a jsou uvolňovány společně s katecholaminy a neuroendokrinními hormony, když je aktivována osa SAM. CgA má delší poločas rozpadu, je stabilnější a lépe se s ním pracuje v porovnání s katecholaminy, proto byl navrhnut jako alternativní ukazatele pro hodnocení aktivity osy SAM (Blaschko et al. 1967; Escribano et al. 2014). U psů mohou být epitopy CgA, katestatin (CST) a vazostatin (VS), měřeny pomocí radioimunologického testu jak v krvi, tak se slinách. Bylo prokázáno, že nejsou ovlivněny věkem, pohlavím, plemenem ani denní dobou (Srithunyarat et al. 2017).

Studie Srithunyarat et al. (2018) však ukázala, že CTS ani VS nejsou vhodnými ukazateli sledování akutního stresu u psů. Při dlouhodobějším stresu však mohou být vhodným nástrojem, protože jak už bylo Srithunyarat et al. (2018) prokázali, že tento ukazatel není ovlivněn věkem, pohlavím, plemenem, váhou těla ani cirkadiánním rytmem.

#### 3.3.2 Obsah kortizolu v srsti psa

Bennett & Hayssen (2010) zkoumali obsah kortizolu nejen ve slinách psa ale také v srsti, v závislosti na jejím zbarvení. Kortizol v psí srsti poskytuje informace o dlouhodobých nebo bazálních sekrecích kortizolu. Základní bazální koncentrace kortizolu jsou zodpovědné za udržování některých homeostatických mechanismů (Munck 2007). Studie Bennett & Hayssen (2010) potvrdila pozitivní korelaci mezi koncentracemi kortizolu v srsti a ve slinách.

Měření kortizolu v srsti má několik výhod. Stříhání srsti snáší většina zvířat relativně dobře. Navíc případná stresová reakce, kterou by mohlo stříhání vyvolat, se v koncentraci

kortizolu v srsti nepromítne. Vzorkování srsti umožňuje srovnání základního kortizolu s jednotlivými vlastnostmi, jako je temperament nebo sociální status (Koren et al. 2002).

Studie Bennett & Hayssen (2010) zkoumala dvě nejpůvodnější plemena ve spojených státech, labradory a německé ovčáky. Analýza kortizolu, při zohlednění věku, pohlaví, váhy a prostředí, přinesla zjištění, že psi, kteří žili v domácnosti samostatně, měli výrazně nižší bazální kortizol než psi žijící v domácnosti s více psy. Tedy život s jinými psy znamená každodenní stres, který však také může mít fyziologický ochranný význam pro zvládnutí určitých stresorů. Studie také prokázala rozdílné koncentrace kortizolu ve vztahu k barvě srsti. U černých psů byla koncentrace kortizolu nižší než u psů jiného zbarvení. Obecně platí, že žluté chlupy mají méně pigmentu než chlupy černé, a tedy se můžeme domnívat, že žluté chlupy poskytují více prostoru pro ukládání glukokortikoidů (Russell 1948).

### **3.3.3 Behaviorální ukazatele stresu u psů**

Chování během stresové reakce je obtížné interpretovat a může se u jednotlivých stresorů lišit (Beerda et al. 2000). Studie Rooney et al. (2007) zkoumala stresovou reakci psů, kteří byli přemístěni do nového chovného prostředí. Jejich chování, které bylo považováno za spojené se stresem, nevykazovalo žádnou korelaci s koncentracemi kortizolu v moči. Interpretace individuálního chování se často vztahuje k určitému kontextu, tedy určité chování může být spojeno se stresem jen za určité situace. V jiné situaci už se stresem spojováno být nemůže. Orální aktivita, jako je zvýšené olizování pysků nastává po působení určitého stresoru, kam můžeme zařadit tlačení hlavy psa dolů pomocí provazu, otevření deštníku v blízkosti psa nebo přitlačení psa dolů na podlahu (Holton et al. 2001). Orální aktivita se ale nezvýšila po působení akutních stresorů jako je hlasitý zvuk nebo pohybující se dětské autíčko (Rooney et al. 2007). Také se prokázala souvislost prostředí, ve kterém psi bydlí, se zdviháním tlapky. Psi, kteří žijí v prostším prostředí, zdvihají packy častěji než psi, žijící v obohacenějším prostředí (Beerda et al. 2000). Stresové chování tedy nelze rozdělit do kategorií specifického chování při akutním stresu nebo při jiném působícím stresu, ale musí být vztaženo pro určité prostředí (Hekman et al. 2014).

### **3.4 Projevy stresu v praxi**

#### **3.4.1 Stresové chování u hospitalizovaných psů**

V posledních desetiletích byla věnována velká pozornost účinkům stresu na lidské zdraví a metodám ke snížení jejich výskytu. Stres tedy začíná být uznáván jako faktor ovlivňující přirozeně se vyskytující choroby u lidí (Salak-Johnson & McGlone 2007).

Význam klinického stresu u malých zvířecích veterinárních pacientů nebyl dosud zcela prozkoumán, avšak je pravděpodobné, že dopad stresu na klinické výsledky (jako je míra přežití nebo rychlost zotavení se po chirurgickém zákroku) bývá podhodnocován. Snížení stresu u domácích zvířat v rámci veterinární péče je zjevně důležité pro jejich duševní pohodu a je ještě důležitější, jestliže farmakologické nebo i nefarmakologické intervence mohou rovněž předcházet nemocen, nebo zlepšit výsledky zdravotní péče. Zkušenosti s hospitalizací vyvolávají stres také u psů. Hlavními faktory vyvolávajícími stres je oddělení od primárního ošetřovatele (Fallani et al. 2007), vliv nových podnětů a nového prostředí (Hiby et al. 2006). Studie zaměřená na výzkum chování a měření srdeční frekvence psa před operací naznačuje, že tato zvířata podléhají stresu (Väisänen et al. 2005), přesto máme málo podrobností o vlivu takového stresu na zdravotní výsledky psa (Hekman et al. 2014).

V případě prokázání souvislosti chování s koncentracemi kortizolu nebo jinými fyziologickými ukazateli, je možné vytvářet stupnice nebo nástroje pro hodnocení stresu. Stupnici je nutné ověřit, aby se zabránilo chybám ve vývojovém procesu a aby mohla být dále prezentována (Hekman et al. 2014). Měření slinného kortizolu v tomto případě není úplně specifickým ukazatelem. Proto je vhodné sledovat ještě jiný parametr, aby se zvýšila spolehlivost výsledků (Siracusa et al. 2008). Často se při hodnocení stresu v klinickém prostředí používá behaviorální posuzování, které je levnou a neinvazivní metodou. Avšak tento ukazatel je velmi variabilní a obtížně interpretovatelný. Proto by u hospitalizovaných psů bylo vhodné více probádat korelace mezi ukazateli stresu a chováním (Beerda et al. 2000).

#### **3.4.2 Vliv hry na koncentraci slinného kortizolu psů**

Krátkodobá interakční hra s psovodem neměla u psa výrazný vliv na změnu koncentrace kortizolu. Ukázalo se, že zde velkou roli hraje věk psa. U dospělých psů koncentrace kortizolu klesla po skončení hry, u starých psů se koncentrace kortizolu zvýšila až ke konci hry (Horváth et al. 2008).

Psi s vyšší počáteční koncentrací kortizolu jsou více motivováni ke hře s psovodem než psi s nižší hladinou kortizolu, a obvykle na výzvu ke hře reagují okamžitě (Horváth et al. 2008). Ochotu ke hře také samozřejmě ovlivňuje přístup psovoda. Psovod, který častěji chválí svého psa, je empatičtější a více nadšený, snadněji vtáhne svého psa do hry (O'Farrel 1997). Ve studii Horváth et al. (2008), psi vedeni disciplinovaným způsobem vykazovali vyšší hladinu kortizolu, než psi vedeni přívětivějším a mazlivějším způsobem.

Podle Arelis (2006) mohou být psi, žijící s rodinami, ovlivňováni chováním jejich majitelů. Zdá se, že přátelské komunikační signály mohou skutečně přispět ke snížení stresu (alespoň v ohledu snížené koncentrace kortizolu). Pravidelná hra se psy by mohla přispět k jejich obecné pohodě a také ke snížení stresu v určitých situacích.

### **3.4.3 Kortizol ve slinách psa během AAI**

Čím se vazba mezi lidmi a zvířaty stává silnější, tím více roste poptávka po terapeutických návštěvách v nemocnicích. Terapeutické využití zvířat v intervencích s asistencí zvířat (animal-assisted interventions; AAI) má za cíl zlepšit lidský psychosociální a emoční stav (Barker et al. 2003). Dokonce i zdraví lidé mohou z pozitivní interakce se psy těžit, protože taková interakce u nich dokáže snížit hladinu kortizolu a zvýšit hladinu oxytocinu (Odendaal & Meintjes 2003). Příznivé účinky zvířat byly prokázány u hospitalizovaných pacientů, dětí s autismem, starých lidí a v hospicové péči (Nimer & Lundahl 2007). Bylo také prokázáno, že kontakt s živým tvorem eliminuje úzkost (u pacientů s psychickou poruchou (Lundqvist et al. 2017)), snižuje hladinu katecholaminů, a mimo jiné také potlačuje vnímání bolesti (Sobo et al. 2006). Terapie za asistence psů (AAT) navíc může zlepšit kvalitu života, schopnost zvládat situace a zvýšit sebevědomí (Nordgren & Engström 2014). Například pouhé 20minutové mazlení psa může zvýšit koncentrace oxytocinu a pozitivně ovlivnit další endokrinní odezvy snižující kortizol, adrenalin a noradrenalin (Beetz et al. 2012). Interakce s přátelským zvířetem také může snížit krevní tlak a srdeční frekvenci (Kuhne et al. 2014).

Přínos psů v životě lidí je nesporný. Avšak výzkum týkající se dobrých životních podmínek psů je omezený. Psi byli původně chováni především pro pomoc při lovu, střežení stáda a k celkové loajalitě ke svým majitelům, zároveň k podezřívavosti a nedůvěře vůči cizím osobám/vetřelcům (Butler 2004). Proto blízký kontakt s neznámými osobami během AAI nemusí být psům příjemný (Serpell et al. 2010). Jedna ze studií (Serpell et al. 2010) předpokládá, že psi, kteří jsou objímáni a mazáni cizími osobami v neznámém prostředí, vnímají tuto interakci jako nepohodlnou. Přestože jsou všichni terapeutičtí psi posuzováni, jak

dobře se chovají v různých složitých prostředích, není zaručeno, že pes nebude v budoucnu během své práce stresován. Proto se doporučuje posuzovat míru stresu u těchto psů v komplexních budovách, jako jsou nemocnice (Clark et al. 2018).

Ve studii Glenk et al. (2013) zkoumali krátkodobé účinky interakce člověk-zvíře na hladinu kortizolu ve slinách psa. V prvním experimentu byly nasbírány vzorky slin od trénovaných asistenčních psů a zkoumal se rozdíl mezi psy pracujícími na vodítku a psy pracujícími bez vodítka. Psi bez vodítka se mohou pohybovat volně a lidský kontakt vyhledávat dle svého uvážení. Podle Beerda et al. (1998) jsou psi, vedení na vodítku během intervence, mnohem více stresováni než psi bez vodítka. Studie Glenk et al. (2013) toto tvrzení potvrdila. Pozitivní kontakt s lidmi může u psů snížit srdeční frekvenci (McGreevy et al. 2005) a také sekreci kortizolu (Bergamasco et al. 2010).

King et al. (2011) zkoumali u terapeutických psů vliv věku psa na pracovní stres, a dospěli k závěru, že starší a zkušenější psi vykazují menší známky stresu, než mladí a nezkušení. To také potvrdila studie Clark et al. (2018) kteří považovali jako jeden z hlavních faktorů věk a zkušenost psa. Mladý pes vykazoval vyšší hladiny kortizolu ve slinách než starší pes s více než 5letými zkušenostmi. Dalším předmětem jejich studie byla frekvence a délka terapií. Výsledky naznačily, že při vyšší četnosti terapií než 2 v týdnu, se koncentrace kortizolu u psů snižuje. Při jedné terapii v týdnu byl pozorován mnohem vyšší nárůst slinného kortizolu po jejím absolvování.

Na druhou stranu, podle Glenk et al. (2013) účast na skupinových terapiích s pacienty s duševním onemocněním hladinu kortizolu u terapeutických psů nevyšila. Autoři tedy předpokládají, že pracovní zátěž psa při terapii není považována jako stresující záležitost, a to jak pro psy zkušené, tak pro psy v tréninku.

Schöberl et al. (2017) ve své studii zjistili, že vztah majitele psa vůči jiným lidem se odráží na vztahu majitele a psa. Interakce, jako je navazování kontaktu s jinými lidmi, se ve styku se psem zobrazují stejným způsobem. Takto může být vazba s majitelem přenesena na variabilitu kortizolu u psů. S tím úzce souvisí fakt, že emoce a stres majitele se velice snadno přenášejí na psa. Psi neurotických majitelů jsou více vystavováni stresovým situacím než psi vyrovnaného majitele. Obecně platí, že vyrovnaní majitelé budou pravděpodobně mít vyrovnané a přátelské psy. Schöberl et al. (2017) také zkoumali vliv pohlaví majitele na povahu psa. Muži mají tendenci vykazovat poměrné zvýšení kortizolu, když je jejich sociální postavení ohroženo (např. když působí před publikem). Ženy pocítují více strachu a méně štěstí než muži, po sociálním zátěžovém testu (Kelly et al. 2008). Muži a ženy se liší nejen ve svých sociálních aspektech a strategiích, ale také ve svém postoji vůči zvířatům. Ženy projevují silnější



emocionální vztahy se zvířaty, než muži (Kotrschal et al. 2009). Během domestikace se psi výrazně přizpůsobili životu s lidmi, a proto drobné rozdíly v sociálních interakcích majitelů mohou mít výrazný vliv na fyziologické a behaviorální reakce psů (Hennessy et al. 1998). Psi údajně mohou přizpůsobit své chování podle pohlaví majitele. Například psi samci jsou s ženskými psovody jsou méně uvolnění a společenší než s psovody mužského pohlaví. Pohlaví psovoda také hraje silnou roli v tom, jak dobře je pes schopen zvládnout rozdílná prostředí během terapie. Stejně pohlaví psovoda a psa bylo spojeno s nižšími odezvami na stres (Schöberl et al. 2017).

## 4 Závěr

Stresová reakce je univerzální ochranný mechanismus organismu a u každého jedince se může projevovat jinak a být doprovázena jinými vedlejšími reakcemi. Citlivost na stres je rozdílná nejen mezi jednotlivými plemeny, ale také mezi jedinci. Existují různé mechanismy, jak stresu odolávat a jak se s ním vyrovnat, avšak dlouhodobé působení stresu organismus vyčerpává a má negativní účinky na imunitní systém a nervové buňky.

Psi žijí po boku člověka už několik tisíc let, avšak stále jsou během práce s člověkem vystavováni různým stresorům. Stres ovlivňuje nejen chování psů, jejich motivaci a ochotu ke spolupráci, ale také jejich pohodlí, zdraví a schopnost odolávat nenadálým situacím a nemocem. Proto je důležité stresovou reakci studovat a sledovat její výskyt v běžných životních činnostech. Důležité je odlišit distres, který působí negativně a je třeba ho eliminovat, od eustresu, který může být užitečný a v některých situacích (např. nadšení z práce, hry, pohybu) je dobré ho podporovat. Dostupné metody toto odlišení neumožňují, proto by bylo dobré se na tuto problematiku v budoucnu zaměřit.

U psů můžeme sledovat projevy stresu několika způsoby. Jedním z nich jsou behaviorální projevy, které se projevují nízkým postavením těla, zvedáním tlapky a olizováním čenichu, ale v interpretaci těchto projevů musíme být opatrní, jelikož se toto chování může projevovat i při jiných než stresových situacích. Dalším způsobem je fyziologické měření, při kterém měříme specifické hormony (vylučované během stresu) v krvi, moči, stolici nebo slinách. Stresové hormony se také mohou ukládat v srsti psa. Každá z metod má svá úskalí, ať už se jedná o její spolehlivost, specifičnost či jenom fakt, jestli metoda poukazuje na stres chronický nebo akutní. Proto je nejlepší využít více metod najednou. V současné době je nejvíce využívaná metoda stanovení obsahu kortizolu ve slinách psa. Při měření kortizolu ve slinách psa je potřeba zohlednit vlastnosti kortizolu a jeho výkyvy ve vylučování. Výhodou metody je její nenáročnost a spolehlivost, avšak v jejím hodnocení musíme brát ohled na to, že nám neurčí, zda se jedná o eustres či distres, nebo jestli se jedná o fyziologický nebo psychogenní stres. Díky této metodě ale můžeme zlepšovat podmínky welfare psů v domácnostech, při návštěvě veterinárního lékaře nebo u pracovních psů.

## 5 Seznam použité literatury

Angle CT, Wakshlag JJ, Gillette RL, Stokol T, Geske S, Adkins TO, Gregor C. 2009. Hematologic, serum biochemical, and cortisol changes associated with anticipation of exercise and short duration high intensity exercise in sled dogs. *Veterinary Clinical Pathology* **38**: 370–374.

Arelis CL. 2006. Stress and the power of play [Doctoral Thesis]. University of Lethbridge, Lethbridge.

Avitsur R, Powell N, Padgett D, Sheridan J. 2009. Social interactions, stress, and immunity. *Immunology Allergy Clinics of North America* **29**:285–293.

Barker S, Rogers C, Turner J, Karpf A, Suthers-McCabe H. 2003. Benefits of interacting with companion animals. *American Behavioral Scientist* **47**: 94-99.

Beerda B, Schilder MBH, Janssen NSCRM, Mol JA. 1996. The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress responses in dogs. *Hormones and Behavior* **30**:272–279.

Beerda B, Schilder MBH, Van Hooff JARAM, De Vries HW, Mol JA. 1998. Behavioural, saliva cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs. *Applied Animal Behavior Science* **58**:365–381.

Beerda B, Schilder MBH, Bernadina W, Van Hooff JARAM, De Vries HW, Mol JA. 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. Hormonal and immunological responses. *Physiology & Behavior* **66**:243–254.

Beerda B, Schilder MBH, Van Hooff JARAM, De Vries HW, Mol JA. 2000. Behavioural and hormonal indicators of enduring environmental stress in dogs. *Journal of Applied Animal Welfare* **9**:49–62.

Beetz A, Julius H, Turner D, Kotrschal K. 2012. Effects of social support by a dog on stressmodulation in male children with insecure attachment. *Frontiers in Psychology* **3**:352.

- Bennett A, Hayssen V. 2010. Measuring cortisol in hair and saliva from dogs: coat color and pigment differences. *Domestic Animal Endocrinology* **39/3**:171-180.
- Bergamasco L, Osella MC, Savarino P, Larosa G, Ozella L, Manassero M, Badino P, Odore R, Barbero R, Re G. 2010. Heart rate variability and saliva cortisol assessment in shelter dog: human–animal interaction effects. *Applied Animal Behaviour Science* **125**:56-68.
- Bergeron R, Scott SLS, Émond JP, Mercier F, Cook NJ, Schaefer AL. 2002. Physiology and behavior of dogs during air transport. *Canadian Journal of Veterinary Research* **66**:211–216.
- Bierhaus A, Wolf J, Andrassy M, Rohleder N, Humpert PM, Petrov D, Ferst R, Von Eynatten M, Wendt T, Rudofsky G, Joswig M, Morcos M, Schwaninger M, McEwen B, Kirschbaum C, Nawroth PP. 2003. A mechanism converting psychosocial stress into mononuclear cell activation. *Proceedings of National Academy of Science of the USA* **100**:1920–1925.
- Blaschko H, Comline RS, Schneider FH, Silver M, Smith AD. 1967. Secretion of a chromaffin granule protein, chromogranin, from the adrenal gland after splanchnic stimulation. *Nature* **215**:58–59.
- Bondy PK. 1985. Disorders of the adrenal cortex. *Williams textbook of endocrinology*, 852.
- Boomershine CS, Wang T, Zwillig BS. 2001. Neuroendocrine regulation of macrophage and neutrophil function. Pages 289–300 in Ader R, Felten DL, Cohen N, editors. *Psychoneuroimmunology*. New York: Academic Press.
- Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR, Wang H, Abumrad N, Eaton JW, Tracey KJ. 2000. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* **405**:458–462.
- Broom DM, Johnson KG. 1993. *Stress and animal welfare*. Chapman & Hall. London
- Brownie AC. 1992. The metabolism of adrenal cortical steroids. *The adrenal gland* **2**:209-225.
- Buchanan TW, Lovallo WR. 2001. Enhanced memory for emotional material following stress-level cortisol treatment in humans. *Psychoneuroendocrinology* **26**:307–317.

Butler K. 2004. *Therapy Dogs Today: Their Gifts, Our Obligation*. Funpuddle Publishing Associates: OK. USA.

Cannon WB. 1915. *Bodily changes in pain, hunger, fear and rage: An account of recent researches into the function of emotional excitement*. Appleton, New York.

Caso JR, Leza JC, Menchen L, Menchén L. 2008. The effects of physical and psychological stress on the gastro-intestinal tract: Lessons from animal models. *Current Molecular Medicine* **8**:299–312.

Clark SD, Smidt JM, Bauer BA. 2018. Welfare Considerations: Salivary Cortisol Concentrations on Frequency of Therapy Dog Visits in an Outpatient Hospital Setting: A Pilot Study. *Journal of Veterinary Behavior* **30**:88-91

Coleman K, Wilson DS. 1998. Shyness and boldness in pumpkinseed sunfish: individual differences are context-specific. *Animal Behavior* **56**:927–936.

Conrad CD, Jackson JL, Wise LS. 2004. Chronic stress enhances ibotenic acid-induced damage selectively within the hippocampal CA3 region of male, but not female rats. *Neuroscience* **125**:759–767.

Cook CJ, Mellor DJ, Harris PJ, Ingram JR, Matthews LR. 2000. Hands-on and hands-off measurement of stress. Pages 123-146 in Moberg GP, Mench JA, editors. *The biology of animal stress*. CABI Publishing.

Davis MS, Willard MD, Nelson SL, Mandsager RE, McKiernan BS, Mansell JK, Lehenbauer TW. 2003. Prevalence of Gastric Lesions in Racing Alaskan Sled Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **17**:311–314.

Davis AK, Maney DL, Maerz JC. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. *Functional Ecology* **22**:760–772.

De Jong IC, Prella IT, Burgwal JA, Lambooij E, Korte SM, Blokhuis HJ. 2000. Effects of environmental enrichment on behavioural responses to novelty, learning, and memory, and the circadian rhythm in cortisol in growing pigs. *Physiology & Behavior* **68**:571–8.

- Depke M, Steil L, Domanska G, Völker U, Schütt C, Kiank C. 2009. Altered hepatic mRNA expression of immune response and apoptosis-associated genes after acute and chronic psychological stress in mice. *Molecular Immunology* **46**:3018–3028.
- Dess NK, Linwick D, Patterson J, Overmier JB, Levine S. 1983. Immediate and proactive effects of controllability and predictability on plasma cortisol responses to shocks in dogs. *Behavioral Neuroscience* **97**:1005–1016.
- Dhabhar FSA. 2009. Hassle a day may keep the pathogens away: The fight-or-flight stress response and the augmentation of immune function. *Integrative and Comparative Biology* **49**:215–236.
- Dickerson S S, Kemeny ME. 2004. Acute stressors and cortisol responses: a theoretical integration and synthesis of laboratory research. *Psychological bulletin* **130/3**:355–391.
- Dimsdale JE. 2008. Psychological Stress and Cardiovascular Disease. *Journal of the American College of Cardiology* **51**:1237–1246.
- Dreschel NA, Granger DA. 2005. Physiological and behavioural reactivity to stress in thunderstorm-phobic dogs and their caregivers. *Applied Animal Behaviour Science* **95**:153–168.
- Driscoll CA, Macdonald DW, O'Brien SJ. 2009. From wild animals to domestic pets, an evolutionary view of domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **106**: 9971–9978.
- Ekins R. 1990. Measurement of free hormones in blood. *Endocrine Reviews* **11/1**:5-46.
- Elenkov IJ. 2004. Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1024**:138–146.
- Engel GL, Schmale AH. 1972. Conservation withdrawal: a primary regulatory process for organic homeostasis. *Physiology, emotions and psychosomatic illness New York* **8**:57–75.

- Escribano D, Gutierrez AM, Fuentes-Rubio M, Ceron JJ. 2014. Saliva chromogranin A in growing pigs: a study of circadian patterns during daytime and stability under different storage conditions. *Veterinary Journal* **199**:355–359.
- Fallani G, Prato Previde E, Valsecchi P. 2007. Behavioral and physiological responses of guide dogs to a situation of emotional distress. *Physiology & Behavior* **90**:648–655.
- Farrell AP. 2002. Coronary arteriosclerosis in salmon: growing old or growing fast? *Comparative Biochemistry and Physiology* **132**:723–735.
- Gangwisch JE, Malaspina D, Boden-Albala B, Heymsfield SB. 2005. Inadequate sleep as a risk factor for obesity: analyses of the NHANES I. *Sleep* **28**:1289–1296.
- Garkavi LKH, Kvakina YB, Ukolova MA. 1979. Adaptational reactions and the organism resistance. Rostov State University Press, Rostov-on-Don.
- Garkavi LKH, Kvakina YB, Kuzmenko TS. 1998. Antistressor reactions and activational therapy. Imedis, Moscow.
- Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. 2005. Stress-induced immune dysfunction: Implications for health. *Nature Reviews Immunology* **5**:243–251.
- Glenk LM, Kothgassner OD, Stetina BU, Palme R, Kepplinger B, Baran H. 2013. Therapy dogs' salivary cortisol levels vary during animal-assisted interventions. *Animal Welfare* **22/3**:369-378.
- Guzman-Marin R, Suntsova N, Stewart DR, Gong H, Szymusiak R, McGinty D. 2003. Sleep deprivation reduces proliferation of cells in the dentate gyrus of the hippocampus in rats. *The Journal of Physiology* **549/2**:563–571.
- Hänsel A, Hong S, Cámara RJA, Von Kaenel R. 2010. Inflammation as a psychophysiological biomarker in chronic psychosocial stress. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **35**:115–121.

Heim C, Nemeroff CB. 1999. The impact of early adverse experiences on brain systems involved in the pathophysiology of anxiety and affective disorders. *Biological Psychiatry* **46**:1509–1522.

Hekman JP. 2017. Transcriptome analysis of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the experimentally domesticated fox [Doctoral Thesis]. University of Illinois at Urbana-Champaign.

Hekman JP, Karas AZ, Sharp CR. 2014. Psychogenic stress in hospitalized dogs: cross species comparisons, implications for health care, and the challenges of evaluation. *Animals* **4/2**:331-347.

Hellhammer DH, Wüst S, Kudielka BM. 2009. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology* **34**:163–171.

Hennessy MB, Williams MT, Miller DD, Douglas CW, Voith VL. 1998. Influence of male and female petters on plasma cortisol and behaviour: Can human interaction reduce the stress of dogs in a public animal shelter. *Applied Animal Behaviour Science* **61**:63–77.

Henry JP, Stephens PM. 1977. *Stress, Health and the social environment: a sociobiological approach to medicine*. Berlin, Springer.

Hiby EF, Rooney NJ, Bradshaw JWS. 2006. Behavioural and physiological responses of dogs entering re-homing kennels. *Physiology & Behavior* **89**:385–391.

Hiramatsu R, Nisula BC. 1988. Erythrocyte-Associated Component of Blood Cortisol. *Annals of the New York Academy of Sciences* **538/1**:159-166.

Holton L, Pawson P, Nolan A, Reid J. 2001. Scott, E.M. Development of a behaviour-based scale to measure acute pain in dogs. *Veterinary Record* **148**:525–531.

Horváth Z, Igyártó BZ, Magyar A, Miklósi Á. 2007. Three different coping styles in police dogs exposed to a short-term challenge. *Hormones and behavior* **52**:621–630.



Horváth Z, Dóka A, Miklósi Á. 2008. Affiliative and disciplinary behavior of human handlers during play with their dog affects cortisol concentrations in opposite directions. *Hormones and behavior* **54/1**:107-114.

Jensen P, Rushen J, Forkman B. 1995. Behavioural strategies or just individual variation in behaviour. A lack of evidence for active and passive piglets. *Applied Animal Behaviour Science* **43**:135–9.

Kahn SE, Maxwell JU, Barron JL. 1984. Salivary cortisol assessment in the evaluation of hypothalamic-pituitary-adrenal function. *South African Medical Journal* **65/21**:843-846.

Keller-Wood ME, Dallman MF. 1984. Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocrine Reviews* **5**:1–23.

Kelly MM, Tyrka AR, Anderson GM, Price LH, Carpenter LL. 2008. Sex differences in emotional and physiological responses to the Trier Social Stress Test. *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry* **39/1**:87–98.

Kiank C, Holtfreter B, Starke A, Mundt A, Wilke C, Schutt C, Heijnen C, Kavelaars A, Schütt C. 2006. Stress susceptibility predicts the severity of immune depression and the failure to combat bacterial infections in chronically stressed mice. *Brain Behavior and Immunity* **20**:359–368.

Kiank C, Entleutner M, Fürll B, Westerholt A, Heidecke CDD, Schütt C. 2007. Stress-induced immune conditioning affects the course of experimental peritonitis. *Shock* **27**:305–311.

King C, Watters J, Mungre S. 2011. Effect of a time-out session with working animal-assisted therapy dogs. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* **6**:232-238.

Kirschbaum C, Hellhammer DH. 1989. Salivary cortisol in psychobiological research: an overview. *Neuropsychobiology* **22/3**:150-169.

Kirschbaum C, Hellhammer DH. 2000. Salivary cortisol. *Encyclopedia of stress* **3**:379-383.

- Kobelt AJ, Hemsworth PH, Barnett JL, Butler KL. 2003. Sources of sampling variation in saliva cortisol in dogs. *Research in Veterinary Science* **75**:157–161.
- Kolevska J, Brunclik V, Svoboda M. 2003. Circadian rhythm of cortisol secretion in dogs of different daily activities. *Acta Veterinaria Brno* **72**:599–605.
- Koolhaas JM, Korte SM, De Boer SF, Van Der Vegt BJ, Van Reenen CG, Hopster H, Blokhuis HJ. 1999. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **23/7**:925-935.
- Koren L, Mokady O, Karaskov T, Klein J, Korent G, Geffen E. 2002. A novel method using hair for determining hormonal levels in wildlife. *Animal Behavioral* **63**:403–406.
- Kotrschal K, Schöberl I, Bauer B, Thibeaut AM, Wedl M. 2009. Dyadic relationships and operational performance of male and female owners and their male dogs. *Behavioural Processes* **81**:383–391.
- Kuhn G, Lichtwald K, Hardegg W, Abel HH. 1991. Reaktionen von Corticoiden, Enzymaktivitäten und Hämatologischen Parametern auf Transportstress bei Hunden. *Journal of Experimental Animal Science* **34**:99–104.
- Kuhne F, Höbller JC, Struwe R. 2014. Behavioral and cardiac responses by dogs to physical human-dog contact. *Journal of Veterinary Behavior Clinical Applications and Research* **9**:93-97.
- Kupriyanov R, Zhdanov R. 2014. The eustress concept: problems and outlooks. *World Journal of Medical Sciences* **11/2**:179-185.
- Lazarus RS. 1993. From psychological stress to the emotions: A history of changing outlooks. Pages 1-21 in Porter LW, Rosenzweig MR, editor. *Annual Review of Psychology* **44**.
- Le Fevre M, Matheny J, Kolt GS. 2003. Eustress, distress and interpretation in occupational stress. *Journal of Managerial Psychology* **18**:726-744.

Le Fevre ML, Kolt GS, Matheny J. 2006. Eustress, distress and their interpretation in primary and secondary occupational stress management: which way first?. *Journal of Managerial Psychology* **21**:547-565.

Lindner HR. 1972. Enterohepatic circulation and patterns of urinary excretion of cortisol metabolites in the ewe. *Journal of Endocrinology* **52**:19–20.

Liston C, Miller MM, Goldwater DS, Radley JJ, Rocher AB, Hof PR, Morrison JH, McEwen BS. 2006. Stress-induced alterations in prefrontal cortical dendritic morphology predict selective impairments in perceptual attentional set-shifting. *Journal of Neuroscience* **26**:7870–7874.

Lundqvist M, Carlsson P, Sjö Dahl R, Theodorsson E, Levin LA. 2017. Patient benefit of dog assisted interventions in health care: a systematic review. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **17**:358.

Madden KS, Felten DL. 1995. Experimental basis for neural-immune interactions. *Physiological Reviews* **75**:77–106.

Maros K, Dóka A, Miklósi Á. 2008. Behavioural correlation of heart rate changes in family dogs. *Applied Animal Behaviour Science* **109**:329–341.

McEwen BS. 1998. Protective and damaging effects of stress mediators. *The New England Journal of Medicine* **338**:171–179.

McEwen BS. 1999. Stress and hippocampal plasticity. *Annual Review of Neuroscience* **22**:105–122.

McEwen BS. 2007. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiological reviews* **87**:3:873-904.

McEwen BS, Wingfield JC. 2003. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones Behavior* **43**:2–15.

- McEwen BS, Chattarji S. 2004. Molecular mechanisms of neuroplasticity and pharmacological implications: the example of tianeptine. *European Neuropsychopharmacology* **14**: 497–502.
- McGreevy PD, Righetti J, Thomson PC. 2005. The reinforcing value of physical contact and the effect on canine heart rate of grooming in different anatomical areas. *Anthrozoös* **18**:236-244.
- McKinnon W, Weisse CS, Reynolds CP, Bowles CA, Baum A. 1989. Chronic stress, leukocyte subpopulations, and humoral response to latent viruses. *Health Psychology* **8**:389–402.
- Meulenberg PMM, Ross HA, Swinkels LMJW, Benraad T. 1987. The effect of oral contraceptives on plasma-free and salivary cortisol and cortisone. *Clinica chimica acta* **165**:379-385.
- Moberg GP. 2000. Biological response to stress: implications for animal welfare. Pages 123-146 in Moberg GP, Mench JA, editors. *The biology of animal stress*. CABI Publishing.
- Möstl E, Palme R. 2002. Hormones as indicators of stress. *Domestic animal endocrinology* **23**:67-74.
- Munck A. 2007. Corticosteroids and stress. Pages 613-619 in Fink G, editor. *Encyclopedia of Stress*. Oxford, Elsevier.
- Munck A, Guyre PM, Holbrook NJ. 1984. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrine reviews* **5/1**:25-44.
- Nelson RA. 1980. Protein and fat metabolism in hibernating bears. *Federation Proceedings* **39**:2955–2958.
- Nelson DL, Simmons BL. 2003. Eustress: an elusive construct, an engaging pursuit. Pages 265-322 in Perrewe PL, Ganster DC, editors. *Research in Occupational Stress and Well-being, Vol. 3: Emotional and Physiological Processes and Positive Intervention Strategies*. Oxford, Elsevier.

- Netto WJ, Planta DJU. 1997. Behavioural testing for aggression in the domestic dog. *Applied Animal Behaviour Science* **52**:243–263.
- Nimer J, Lundahl B. 2007. Animal-assisted therapy: a meta-analysis. *Anthrozoös* **20/3**:225-238.
- Nordgren L, Engström G. 2014. Animal-assisted intervention in dementia: effects on quality of life. *Clinical Nursing Research* **23**:7-19.
- Odendaal J and Meintjes RA. 2003. Neurophysiological correlates of affiliative behavior between humans and dogs. *The Veterinary Journal* **165**:296-301.
- O'Farrell V. 1997. Owner attitudes and dog behaviour problems. *Applied Animal Behaviour Science* **52**:205–213.
- Olf M, Brosschot JF, Godaert GLR. 1993. Coping styles and health. *Personality and Individual Differences* **15**:81–90.
- Otte C, Hart S, Neylan TC, Marmar CR, Yaffe K, Mohr DC. 2005. A meta-analysis of cortisol response to challenge in human aging: importance of gender. *Psychoneuroendocrinology* **30**:80–91.
- Ottenheimer Carrier L, Cyr A, Anderson RE, Walsh CJ. 2013. Exploring the dog park: Relationships between social behaviours, personality and cortisol in companion dogs. *Applied Animal Behaviour Science* **146**:96–106.
- Pagani M, Rimoldi O, Pizzinelli P, Furlan R, Crivellaro W, Liberati D, Cerutti S, Malliani A. 1991. Assessment of the neural control of the circulation during psychological stress. *Journal of the Autonomic Nervous System* **35**:33–42.
- Palme R, Fischer P, Schildorfer H, Ismail MN. 1996. Excretion of infused <sup>14</sup>C-steroid hormones via faeces and urine in domestic livestock. *Animal Reproduction Science* **43**:43–63.

- Palme R, Rettenbacher S, Touma C, El-Bahr SM, Möstl E. 2005. Stress hormones in mammals and birds: Comparative aspects regarding metabolism, excretion, and noninvasive measurement in fecal samples. *Annals of the New York Academy Science* **1040**:162–171.
- Palsgaard-Van Lue A, Jensen AL, Strøm H, Kristensen AT. 2007. Comparative analysis of haematological, haemostatic, and inflammatory parameters in canine venous and arterial blood samples. *The Veterinary Journal* **173**:664–668.
- Quick JC, Quick JD, Nelson DL, Hurrell JJ. 1997. Preventive stress management in organizations. Washington DC, American Psychological Association.
- Remer T, Maser-Gluth C, Wudy S. 2008. Glucocorticoid measurements in health and disease—Metabolic implications and the potential of 24-h urine analyses. *Mini-Reviews Medicinal Chemistry* **8**:153–170.
- Romero LM, Butler LK. 2007. Endocrinology of stress. *International Journal Comparative Psychology* **20**:89–95.
- Rooney NJ, Gaines SA, Bradshaw JWS. 2007. Behavioural and glucocorticoid responses of dogs (*Canis familiaris*) to kennelling: Investigating mitigation of stress by prior habituation. *Physiology & Behavior* **92**:847–854.
- Russell ES. 1948. A quantitative histological study of the pigment found in the coat color mutants of the house mouse. II. Estimates of the total volume of pigment. *Genetics* **33**:228–236.
- Salak-Johnson J, McGlone J. 2007. Making sense of apparently conflicting data: Stress and immunity in swine and cattle. *Journal of Animal Science* **85**:81–88.
- Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews* **21**:55–89.

Seegerstrom SC, Miller GE. 2004. Psychological stress and the human immune system: A meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychological Bulletin* **130**:601–630.

Selye H. 1936. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* **138**:32.

Selye H. 1950. The physiology and pathology of exposure to stress, a treatise based on the concepts of the general-adaptationsyndrome and the diseases of adaptation. *Acta Medica*, Montreal.

Serpell JA, Coppinger R, Fine AH, Peralta JM. 2010. Welfare considerations in therapy and assistance animals. Pages 481-503 in Fine AH. editor. *Handbook on Animal- Assisted Therapy*, 3rd ed. Academic Press, San Diego.

Sgoifo A, Koolhaas JM, Musso E, De Boer SF. 1999. Different Sympathovagal Modulation of Heart Rate During Social and Nonsocial Stress Episodes in Wild-Type Rats. *Physiology & Behavior* **67**:733–738.

Schatz S, Palme R. 2001. Measurement of Faecal Cortisol Metabolites in Cats and Dogs: A Non-invasive Method for Evaluating Adrenocortical Function. *Veterinary Research Communications* **25**:271–287.

Schjolden J, Backström T, Pulman KGT, Pottinger TG, Winberg S. 2005. Divergence in behavioural responses to stress in two strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with contrasting stress responsiveness. *Hormones and Behavior* **48**:537–544.

Schöberl I, Wedl M, Beetz A, Kotrschal K. 2017. Psychobiological factors affecting cortisol variability in human-dog dyads. *PloS ONE* **12** (e0170707) DOI: 10.1371/journal.pone.0170707.

Schwarzenberger F, Möstl E, Palme R, Bamberg E. 1996. Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Animal Reproduction Science* **42**:515–26.

- Siracusa C, Manteca X, Cerón J, Martínez-Subiela S, Cuenca R, Lavín S, Garcia F, Pastor J. 2008. Perioperative stress response in dogs undergoing elective surgery: Variations in behavioural, neuroendocrine, immune and acute phase responses. *Animal Welfare* **17**:259–273.
- Skandakumar S, Stodulski G, Hau J. 1995. Salivary IgA: A possible stress marker in dogs. *Animal Welfare* **4**:339–350.
- Sobo EJ, Eng B and Kassity-Krich N. 2006. Canine visitation (pet) therapy: pilot data on decreases in child pain perception. *Journal of Holistic Nursing* **24**:51–57.
- Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E. 1999. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet* **354**:1435–1439.
- Srithunyarat T, Hagman R, Höglund OV, Olsson U, Stridsberg M, Jitpean S, Lagerstedt AS, Pettersson A. 2017. Catestatin and vasostatin concentrations in healthy dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica* **59**:1.
- Srithunyarat T, Hagman R, Höglund OV, Stridsberg M, Hanson J, Lagerstedt AS, Pettersson A. 2018. Catestatin, vasostatin, cortisol, and visual analog scale scoring for stress assessment in healthy dogs. *Research in veterinary science* **117**:74-80.
- Step toe A, Hamer M, Chida Y. 2007. The effects of acute psychological stress on circulating inflammatory factors in humans: A review and meta-analysis. *Brain, Behavior and Immunity* **21**:901–912.
- Sterling P, Eyer J. 1988. Allostasis: a new paradigm to explain arousal pathology. Pages 629–649 in Fisher S, Reason J, editors. *Handbook of Life Stress, Cognition and Health*. Wiley, New York.
- Svartberg K. 2002. Shyness–boldness predicts performance in working dogs. *Applied Animal Behaviour Science* **79**:157–174.



Takahashi A, Uchiyama S, Kato Y. 2009. Immunochromatographic assay using gold nanoparticles for measuring salivary secretory IgA in dogs as a stress marker. *Science and Technology of Advanced Materials* (034604) doi:10.1088/1468-6996/10/3/034604.

Takahashi I, Nochi T, Kunisawa J. 2010. The mucosal immune system for secretory IgA responses and mucosal vaccine development. *Inflammation and Regeneration* **30**:40–47.

Terlouw EM, Schouten WGP, Ladewig J. 1997. Physiology. Pages 143-158 in Appleby MC, Hughes BO, editors. *Animal welfare*. University Press, Cambridge.

Thayer JF, Lane RD. 2000 A model of neurovisceral integration in emotion regulation and dysregulation. *Journal of Affective Disorders* **61**:201–216.

Ursin H. 1998. The psychology in psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology* **23**:555–70.

Väisänen MAM, Valros AE, Hakaoja E, Raekallio MR, Vainio OM. 2005. Pre-operative stress in dogs—A preliminary investigation of behavior and heart rate variability in healthy hospitalized dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* **32**:158–167.

Van Cauter E. 1987. Pulsatile ACTH secretion. *Episodic Hormone Secretion: From Basic Science to Clinical Application* 65-75.

Vas J, Topál J, Gácsi M, Miklósi Á, Csányi V. 2005. A friend or enemy? Dogs' reaction to an unfamiliar person showing behavioural cues of threat and friendliness at different times. *Applied Animal Behaviour Science* **94**:99–115.

Večeřová-Procházková A, Honzák R. 2008. Stres, eustres a distres. *Interní medicína pro praxi* **10/4**:188-192.

Verbeek ME, Boon A, Drent PJ. 1996. Exploration, aggressive behaviour and dominance in pair-wise confrontations of juvenile male great tits. *Behaviour* **133/11**:945-963.

- Vgontzas AN, Zoumakis E, Bixler EO, Lin HM, Follett H, Kales A, Chrousos GP. 2004. Adverse effects of modest sleep restriction on sleepiness, performance, inflammatory cytokines. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **89**:2119–2126.
- Vincent IC, Michell AR. 1992. Comparison of cortisol concentrations in saliva and plasma of dogs. *Research in Veterinary Science* **53**:342–345.
- Von Känel R, Dimsdale JE, Patterson TL, Grant I, Känel R. 2003. Acute procoagulant stress response as a dynamic measure of allostatic load in Alzheimer caregivers. *Annals of Behavioral Medicine* **26**:42–48.
- Vyas A, Mitra R, Rao BSS, Chattarji S. 2002. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *Journal of Neuroscience* **22**:6810–6818.
- Walker RF, Joyce BG, Dyas J, Riad-Fahmy D. 1984. Salivary cortisol: I. Monitoring changes in normal adrenal activity. Pages 308-316 in Read GF, Riad-Fahmy D, Walker RF, Griffiths K, editors. *Immunoassays of steroids in saliva*. Alpha Omega, Cardiff.
- Ward PA, Blanchard RJ, Bolivar V, Brown MJ, Chang F, Herman JP, Zawistowski SL. 2008. *Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals*. National Academies Press, Washington DC.
- Wechsler B. 1995. Coping and coping strategies: a behavioural view. *Applied Animal Behaviour Science* **43**:123–34.
- Weiss E, Greenberg G. 1997. Service dog selection tests: effectiveness for dogs from animal shelters. *Applied Animal Behaviour Science* **53**:297–308.
- Weiss IC, Pryce CP, Jongen-Relo AL, Nanz-Bahr NI, Feldon J. 2004. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural Brain Research* **152**:279–295.

Wender R, Brown AM, Fern R, Swanson RA, Farrell K, Ransom BR. 2000. Astrocytic glycogen influences axon function and survival during glucose deprivation in central white matter. *Journal of Neuroscience* **20**:6804–6810.

Wilkins AS, Wrangham RW, Fitch WT. 2014. The “domestication syndrome” in mammals: a unified explanation based on neural crest cell behavior and genetics. *Genetics* **197**:795–808.

Wingfield JC, Romero LM. 2001. Adrenocortical responses to stress and their modulation in free-living vertebrates. *Handbook of physiology* **7**:211-236.

Wood GE, Young LT, Reagan LP, McEwen BS. 2003. Acute and chronic restraint stress alter the incidence of social conflict in male rats. *Hormones and Behavior* **43**:205–213.

Wray CJ, Mammen J, Hasselgren PO. 2002. Catabolic response to stress and potential benefits of nutrition support. *Nutrition* **18**:971–977.