



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**



TESTE DE ESTRESSE AO FRIO EM CÃES

SILVANA MARQUES CARAMALAC

Campo Grande – MS
2023

SILVANA MARQUES CARAMALAC

TESTE DE ESTRESSE AO FRIO EM CÃES

Cold stress test in dogs

SILVANA MARQUES CARAMALAC

Orientadora: Profa Dra. Mariana Isa Poci Palumbo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Ciências Veterinárias.

Campo Grande – MS
2023



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Teste de estresse ao frio em cães", registrada com o nº 1.062/2019, sob a responsabilidade de **Mariana Isa Poci Palumbo** - que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL/UFMS, na 6ª reunião ordinária do dia 29/08/2019.

FINALIDADE	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	1º/10/2019 a 1º/10/2021
Espécie/Linhagem/Raça	<i>Canis familiaris</i>
Nº de animais	34 Machos + 34 Fêmeas = 68
Peso/Idade	Não especificados / De 6 meses a 8 anos
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Hospital Veterinário/FAMEZ/UFMS

Fábio José Carvalho Faria

Coordenador da CEUA/UFMS

Campo Grande, 02 de setembro de 2019.



Documento assinado eletronicamente por **Fábio José Carvalho Faria, Professor do Magisterio Superior**, em 03/09/2019, às 18:11, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1464806** e o código CRC **D9C13471**.

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

RESUMO

CARAMALAC, S.M. Teste de estresse ao frio em cães. 2023. DOUTORADO – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2023.

A termorregulação está diretamente relacionada ao sistema nervoso autônomo, assim, a comprovação da integridade deste sistema pode ser realizada por meio da avaliação da vasoconstrição e vasodilatação cutâneas. Em humanos, isto é feito por meio do teste de estresse ao frio, em que uma região específica do corpo (mãos ou pés) é induzida a vasoconstrição por meio da imersão em solução fria em temperatura específica e, após imersão, determina-se o tempo necessário para que ocorra o reaquecimento. Além disso, o gradiente térmico longitudinal permite o acompanhamento de melhora ou agravamento das doenças. Até o momento, todavia, não se sabe como é a curva de reaquecimento nem o gradiente térmico longitudinal após este teste em cães saudáveis, o que impossibilita a realização deste teste em cães com suspeita de comprometimento do sistema nervoso autônomo ou vascular. Desse modo, o objetivo deste estudo foi padronizar o teste de estresse ao frio em cães saudáveis. Para isso, 34 cães sadios foram divididos em dois grupos, machos (n=17) e fêmeas (n=17). Após ambientação a $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 15 minutos, era realizada a imersão em água ($12\pm 1^{\circ}\text{C}$) do membro pélvico até a metade do metatarso, de modo que toda a região plantar ficasse submersa. Após 5 minutos, a região era emergida e cuidadosamente seca. Imagens termográficas foram realizadas antes da imersão, logo após imersão e a cada 3 minutos, totalizando 30 minutos de avaliação. Os parâmetros frequência cardíaca, pressão arterial sistólica e temperaturas retal e timpânica também foram avaliados, sendo estes coletados antes, imediatamente após e a cada 10 minutos, durante 30 minutos. A partir da análise dos resultados, verificou-se que não houve diferença estatística entre machos e fêmeas na curva de reaquecimento, diferença longitudinal-distal e nos parâmetros fisiológicos. Não houve diferença estatística entre os membros testado ($29.0\pm 3.4^{\circ}\text{C}$) e controle ($29.1\pm 3.4^{\circ}\text{C}$) no momento imediatamente antes da realização do teste ($p > 0.9999$). No momento imediatamente após o teste, a extremidade do membro testado apresentou temperatura significativamente inferior ($19.9\pm 3.1^{\circ}\text{C}$) em relação a extremidade contralateral ($28.8\pm 3.7^{\circ}\text{C}$) ($p < 0.0001$), voltando a ser estatisticamente iguais apenas a partir do momento 27 minutos (teste_{27min}: $28.3\pm 5.1^{\circ}\text{C}$; controle_{27min}: $31.3\pm 3.8^{\circ}\text{C}$). Quando analisada apenas a extremidade testada, observou-se que demorou 18 minutos para que ela voltasse a temperatura estatisticamente igual ao momento anterior ao teste (teste_{antes}: $29.0\pm 4.3^{\circ}\text{C}$; teste_{18min}: $27.1\pm 4.3^{\circ}\text{C}$; valor-p = 0.1464). Durante o período de avaliação, verificou-se que, a partir do momento 3 minutos, a extremidade controle apresentou aumento significativo de temperatura em relação ao momento “antes” (controle_{antes}: $29.1\pm 3.4^{\circ}\text{C}$; controle_{3min}: $31.2\pm 3.3^{\circ}\text{C}$; valor-p = 0.0002), com esta diferença se mantendo até o final do período de avaliação. A diferença longitudinal-distal de cada dígito foi constante entre todos os momentos, sendo a maior diferença de temperatura encontrada de $1.7\pm 0.9^{\circ}\text{C}$. Não houve diferença estatística dos parâmetros fisiológicos entre o momento “antes” em relação aos demais momentos analisados. O aumento de temperatura do membro contralateral não testado observado neste estudo também é observado em estudos em humanos submetidos ao teste de estresse ao frio, o que pode ser atribuído a um mecanismo reflexo sistêmico para que haja o reestabelecimento da temperatura periférica. A não alteração nos parâmetros fisiológicos apesar do aumento de temperatura da extremidade não testada evidencia que o sistema vascular parece ser mais precoce para indicar envolvimento do sistema nervoso central. Este é o primeiro estudo que padroniza o teste de estresse ao frio em cães sadios. Mais estudos com animais com alteração autonômica ou vascular devem ser realizados para demonstrar a eficácia clínica deste teste em cães.

Palavras-chave: noradrenalina, sistema nervoso simpático, termografia, termorregulação, vasoconstrição.

53

54

ABSTRACT

55 Thermoregulation is directly related to the autonomic nervous system, thus, the verification of the
56 integrity of this system can be carried out through the evaluation of cutaneous vasoconstriction and
57 vasodilation. In humans, this is done through the cold stress test, in which a specific region of the
58 body (hands or feet) is induced to vasoconstriction by immersion in a cold solution at a specific
59 temperature and, after immersion, the time required for reheating to occur. In addition, the
60 longitudinal thermal gradient allows the monitoring of improvement or worsening of diseases. So far,
61 however, it is not known what the rewarming curve or the longitudinal thermal gradient is like after
62 this test in healthy dogs, which makes it impossible to perform this test in dogs with suspected
63 impairment of the autonomic nervous or vascular system. Thus, the aim of this study was to
64 standardize the cold stress test in healthy dogs. For this, 34 healthy dogs were divided into two
65 groups, males (n=17) and females (n=17). After acclimatization at $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 15 minutes, the pelvic
66 limb was immersed in water ($12\pm 1^{\circ}\text{C}$) up to the middle of the metatarsal, so that the entire plantar
67 region was submerged. After 5 minutes, the region was immersed and carefully dried.
68 Thermographic images were taken before immersion, immediately after immersion and every 3
69 minutes, totaling 30 minutes of evaluation. Heart rate, systolic blood pressure, and rectal and
70 tympanic temperatures were also evaluated, which were collected before, immediately after, and
71 every 10 minutes for 30 minutes. From the analysis of the results, it was verified that there was no
72 statistical difference between males and females in the rewarming curve, longitudinal-distal
73 difference and in the physiological parameters. There was no statistical difference between the tested
74 ($29.03.4^{\circ}\text{C}$) and control ($29.1\pm 3.4^{\circ}\text{C}$) limbs at the moment immediately before the test ($p>0.9999$).
75 Immediately after the test, the tested paw showed a significantly lower temperature ($19.9\pm 3.1^{\circ}\text{C}$)
76 compared to the contralateral paw ($28.8\pm 3.7^{\circ}\text{C}$) ($p<0.0001$), returning to being statistically equal only
77 after the moment 27 minutes (test27min: $28.3\pm 5.1^{\circ}\text{C}$; control27min: $31.3\pm 3.8^{\circ}\text{C}$). When only the
78 tested paw was analyzed, it was observed that it took 18 minutes for it to return to the temperature
79 statistically equal to the moment before the test (testers: $29.0\pm 4.3^{\circ}\text{C}$; test18min: $27.1\pm 4.3^{\circ}\text{C}$; p-value
80 = 0.1464) . During the evaluation period, it was verified that, from the moment 3 minutes onwards,
81 the control paw showed a significant increase in temperature in relation to the moment "before"
82 (controlbefore: $29.1\pm 3.4^{\circ}\text{C}$; control3min: $31.2\pm 3.3^{\circ}\text{C}$; p-value = 0.0002), with this difference
83 remaining until the end of the evaluation period. The longitudinal-distal difference of each digit was
84 constant between all moments, with the highest temperature found being $1.7\pm 0.9^{\circ}\text{C}$. There was no
85 statistical difference in the physiological parameters between the "before" moment and the other
86 analyzed moments. The increase in temperature of the non-tested contralateral limb observed in this
87 study also described in studies with humans submitted to the cold stress test, which can be attributed
88 to a systemic reflex mechanism for the reestablishment of peripheral temperature. The non-change
89 in the physiological parameters despite the increase in temperature of the untested extremity shows
90 that the vascular system seems to be earlier to indicate involvement of the central nervous system.
91 This is the first study that standardized the cold stress test in healthy dogs. Further studies with
92 animals with autonomic or vascular alterations must be performed to demonstrate the clinical efficacy
93 of this test in dogs.

94 Keywords: noradrenaline, sympathetic nervous system, thermography, thermoregulation,
95 vasoconstriction.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Imagem termográfica da região plantar do membro avaliado durante o teste de estresse ao frio, onde era obtida a temperatura dos cinco pontos de interesse (região central de cada coxim digital e do coxim plantar). 21
- Figura 2. Imagens termográficas da extremidade testada (teste) e contralateral (controle) durante a realização do teste de estresse ao frio. É possível observar aumento de temperatura da extremidade controle a partir do momento 3 minutos, em relação ao momento “antes”. 24
- Figura 3. Média e desvio-padrão da temperatura dos coxins da extremidade submetida ao teste de estresse ao frio (A) e da extremidade controle (B) antes, após e a cada 3 minutos durante 30 minutos de avaliação. O asterisco (*) representa os momentos em que houve diferença significativa de temperatura em relação ao momento anterior a imersão da extremidade do membro testado (momento “antes”). 25

97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Perfil dos cães participantes do estudo de acordo com o gênero, idade, peso e resultado do escore C-BARQ para medo/ansiedade e excitabilidade. 22
- Tabela 2. Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (95%) e valor-p da temperatura dos coxins submetidos ao teste de estresse ao frio e dos coxins do membro controle antes, após e a cada 3 minutos, durante 30 minutos de avaliação e valor-p da comparação entre os coxins testado e controle. 23
- Tabela 3. Diferença de temperatura longitudinal-distal da extremidade submetida ao teste de estresse ao frio antes, após e a cada 3 minutos, durante 30 minutos de avaliação. 25
- Tabela 4. Frequência cardíaca (bpm), pressão arterial sistólica (mmHg), temperatura retal (°C) e periférica (°C) avaliadas antes, após, e a cada 10 minutos até 30 minutos após a realização do teste de estresse ao frio. 26

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1. Sistema nervoso autônomo.....	10
2.1.1. Sistema nervoso simpático.....	12
2.1.2. Sistema nervoso parassimpático.....	13
2.1.3. Neurotransmissores do sistema nervoso autônomo.....	14
2.2. Controle de temperatura.....	15
2.3. Teste de estresse ao frio.....	16
3. OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS.....	19
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
5. RESULTADOS.....	21
6. DISCUSSÃO.....	26
7. CONCLUSÃO.....	34
8. IMPACTO ECONÔMICO, SOCIAL E/OU INOVAÇÃO.....	35
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

117

118

119 **INTRODUÇÃO**

120 O sistema nervoso autônomo (SNA) é responsável por organizar respostas
121 neuronais independentes do nível de consciência, na ocorrência de mudanças de
122 temperatura (CHESHIRE JR, 2016). Na exposição ao frio, o sistema nervoso
123 simpático (SNS) atua primeiramente nos receptores α -noradrenérgicos, resultando
124 em contração do músculo liso dos vasos sanguíneos (TANSEY e JOHNSON, 2015;
125 FEALEY, 2018), sendo desse modo a exposição ao frio um meio de aumentar a
126 atividade simpática do organismo (SUZUKI et al., 2013).

127 Em humanos, sabe-se que a resposta do SNS na pele é melhor avaliada nas
128 regiões palmares e plantares (QUINTON, 1983). A avaliação da atividade do SNS
129 pode ser realizada por meio da técnica de microneurografia, a partir da inserção de
130 um microeletrodo de tungstênio em um fascículo do nervo, que permite a
131 observação de atividades neuronais simpáticas espontâneas. Entretanto, os
132 resultados desta técnica não podem ser facilmente comparados entre os pacientes,
133 além de ser uma técnica laboriosa e não utilizada na rotina (GRASSI e ESLER,
134 1999).

135 O teste de estresse ao frio (TEF), também denominado de teste de imersão
136 em água fria (UDDIN et al., 2013), consiste em exame neurofisiológico que permite
137 avaliação da denervação autonômica e reflexo vasomotor anormal na pele por meio
138 da termografia (ANTONIO-RUBIO et al., 2015). Este teste baseia-se no registro da
139 temperatura da mão antes e após imersão em água fria e após o período de
140 recuperação (UDDIN et al., 2013), sendo uma prova de estresse induzida em
141 condições controladas, que tem como objetivo estimular a ativação e
142 funcionamento do SNS (SCHWABE e SCHÄCHINGER, 2018).

143 Neste teste, o aumento do tônus do SNS é responsável pela vasoconstrição
144 cutânea, com o objetivo de manter a temperatura do organismo adequada para seu
145 pleno funcionamento (CHESHIRE JR, 2016). Em pessoas saudáveis, a
146 recuperação da temperatura após o TEF é verificada por uma curva de
147 reaquecimento exponencial padronizada, com a recuperação da temperatura
148 alguns minutos após a realização do teste (DUPUIS, 1987). Em humanos, a
149 temperatura aumenta rapidamente a 28°C ou mais, de modo que se considera
150 atraso na recuperação aqueles que não alcançam esta temperatura em até 15

151 minutos após a imersão na água (DUPUIS, 1987). A menor queda de temperatura
152 e maior tempo de recuperação da pele após o TEF podem indicar vasoconstrição
153 ineficiente e prolongada, demonstrando resposta exacerbada da função nervosa
154 simpática, como descrito nos pacientes com Parkinson, por exemplo (SUZUKI et
155 al., 2013; ANTONIO-RUBIO et al., 2015).

156 Até o momento, não há estudos em cães que analisem as funções
157 autonômicas da pele a partir de imagens termográficas. A padronização do TEF é
158 fundamental para que pesquisas posteriores possam ser realizadas para avaliação
159 do comprometimento do SNA, a fim de determinar se, à semelhança dos estudos
160 realizados em humanos, essa técnica poderá ser usada como auxílio diagnóstico e
161 indicador preditivo de doenças frequentes na rotina de atendimento clínico
162 veterinário. Além disso, esta técnica também permitirá avaliação não-invasiva da
163 condição e qualidade da circulação periférica, sendo fundamental a padronização
164 para realização de estudos que avaliem o TEF para o diagnóstico precoce de
165 importantes desordens, como tromboembolismo.

166

167

168 **2. REVISÃO DE LITERATURA**

169

170 **2.1. Sistema nervoso autônomo**

171

172 O sistema nervoso pode ser dividido em relação aos seus aspectos
173 anatômicos, funcionais, sua organização segmentar ou seu desenvolvimento
174 ontogenético (GUYTON e HALL, 2011a). Na divisão funcional, o sistema nervoso é
175 constituído pelos componentes somático e visceral. O sistema nervoso somático,
176 responsável pela inervação da musculatura somática, possui as fibras aferentes
177 (responsáveis por conduzir os impulsos a partir dos receptores periféricos) e
178 eferentes (que transmitem os impulsos nervosos dos centros superiores à
179 musculatura esquelética) (GRIM e WAGNER, 2013; PRADA, 2014).

180 Já o sistema nervoso visceral (também chamado de vegetativo ou
181 neurovegetativo) é subdividido em sistema nervoso autônomo (SNA) e sistema
182 nervoso não adrenérgico não colinérgico (anteriormente conhecido como entérico).
183 A este último era atribuída sua localização apenas no sistema do trato digestivo,

184 todavia, atualmente, sabe-se que há o seu envolvimento no controle de outros
185 órgãos, como pulmão, sendo responsável por gerar respostas reflexas a partir das
186 variações locais (GRIM e WAGNER, 2013).

187 O funcionamento integral do SNA é primordial para a manutenção da
188 homeostase do organismo (MCCORRY, 2007; DEWEY, 2017), tendo papel
189 fundamental na digestão de alimentos, manutenção da frequência cardíaca,
190 sudorese, secreção hormonal, controle do tônus vasomotor, da respiração,
191 manutenção da temperatura corpórea, dentre outros (GRIM e WAGNER, 2013;
192 PRADA, 2014). Dividido em simpático (ou adrenérgico) e parassimpático (ou
193 colinérgico), estes são caracterizados pelo seu funcionamento reflexo (ou seja,
194 inconsciente) e na maioria das vezes antagônico. Todavia, ambos atuam em
195 concordância de maneira a garantir o bom funcionamento das estruturas por elas
196 inervadas (DEWEY, 2017).

197 As vias aferentes do SNA são responsáveis por induzir respostas reflexas
198 ou de plenitude de órgãos ocos, como da vesícula urinária ou estômago, assim
199 como sinais de nocicepção e bem ou mal-estar (GRIM e WAGNER, 2013).
200 Enquanto os neurônios aferentes de nocicepção estão presentes apenas nos
201 nervos simpáticos, tanto os nervos parassimpáticos como os simpáticos possuem
202 neurônios aferentes fisiológicos, sendo responsáveis pelos reflexos respiratórios,
203 cardiovasculares e gastrointestinais (GUYTON e HALL, 2011a).

204 A principal região do cérebro responsável pelo controle do SNA é o
205 hipotálamo (GRIM e WAGNER, 2013), com os núcleos da região anterior
206 responsáveis pelo comando parassimpático. Estes, quando ativados, resultam em
207 aumento do peristaltismo intestinal, diminuição da frequência cardíaca e pressão
208 arterial, contração pupilar (miose) e dos músculos da vesícula urinária. Já o controle
209 do SNS se dá principalmente nos núcleos posteriores do hipotálamo, que quando
210 estimulados, resultam em ações contrárias àquelas promovidas pelo SN
211 parassimpático (como diminuição da frequência cardíaca e pressão arterial, dentre
212 outros) (GUYTON e HALL, 2011a). Além do hipotálamo, o sistema límbico e área
213 pré-frontal do cérebro também são importantes regiões responsáveis pelos
214 comandos viscerais, sendo observados principalmente quando acompanhados por
215 alterações emocionais, como raiva e medo (PRADA, 2014).

216

217 **2.1.1. Sistema nervoso simpático**

218

219 O SNS é conhecido pelas características presentes durante situações de
220 estresse ou emergência, de modo que, em situações de “luta ou fuga”, há ativação
221 deste, a fim de garantir máxima oxigenação tecidual, sobretudo à musculatura
222 esquelética. Esse mecanismo assegura que o tecido muscular tenha oxigênio e
223 glicose suficientes para funcionar em sua totalidade (MCCORRY, 2007). Além da
224 vasodilatação na musculatura esquelética, a ativação do SNS também é
225 responsável pelo aumento da frequência cardíaca e pressão arterial, redução do
226 fluxo sanguíneo e da motilidade do trato gastrointestinal (GUYTON e HALL, 2011a).

227 Ao contrário do SN somático, que contém um único neurônio motor, o
228 sistema eferente simpático é formado por dois neurônios, sendo eles denominados
229 de acordo com a sua localização em relação aos gânglios nervosos (GRIM e
230 WAGNER, 2013). Os corpos dos neurônios pré-ganglionares do SNS estão
231 localizados nas regiões torácica e lombar da substância cinzenta da medula
232 espinhal (entre T1-L5), de modo que o SNS também é conhecido como sistema
233 toracolombar (GRIM e WAGNER, 2013; DEWEY, 2017). Estes neurônios são
234 curtos e seus axônios saem do canal vertebral pelas raízes ventrais dos nervos
235 espinhais, fazendo sinapse com os neurônios pós-ganglionares nos gânglios
236 paravertebrais (também conhecidos como vertebrais), localizados no tronco
237 simpático, estrutura neural lateral à base dos corpos vertebrais. Após sinapse no
238 tronco simpático, as longas fibras dos neurônios pós-ganglionares que surgem a
239 partir dos gânglios paravertebrais se ligam aos tecidos-alvo, transmitindo o impulso
240 nervoso para a terminação inervada (MCCORRY, 2007).

241 Cabe ressaltar que esta organização do SNS não se aplica em relação a
242 inervação da glândula suprarrenal, uma vez que as fibras pré-ganglionares deste
243 sistema fazem sinapse diretamente no tecido glandular da suprarrenal, não
244 havendo o envolvimento do gânglio visceral (PRADA, 2014). Quando estimulada,
245 a suprarrenal libera as catecolaminas diretamente na corrente sanguínea, de modo
246 que elas atuam em receptores do SNS de todos os tecidos, simultaneamente
247 (GUYTON e HALL, 2011a).

248 Outra particularidade do SNS é que, além das sinapses nos gânglios
249 paravertebrais (ou vertebrais) e na glândula suprarrenal (gânglios terminais), os

250 neurônios pré-ganglionares, através dos nervos esplâncnicos, fazem sinapse com
251 os neurônios pós-ganglionares nos gânglios celíaco, aorticorrenal e mesentéricos
252 cranial/caudal, estes denominados gânglios pré-vertebrais, estando localizados no
253 abdômen (DEWEY, 2017).

254 Diferentemente do SN parassimpático, em todos os pares de nervos
255 espinhais há a presença de neurônios pós-ganglionares simpáticos. Esta
256 particularidade permite a ampla distribuição da inervação simpática, o que explica
257 a razão pela qual alguns tecidos, como musculatura lisa dos vasos sanguíneos
258 cutâneos e das glândulas sudoríparas e os músculos eretores do pelo, serem
259 regulados apenas por este sistema (GUYTON e HALL, 2011a). Além destas
260 estruturas, o SNS também é responsável pela inervação do coração, pulmão,
261 globos oculares, glândulas salivares, membrana mucosa da cavidade nasal, e
262 órgãos das cavidades abdominal e pélvica, como intestino, pâncreas e vesícula
263 urinária (MCCORRY, 2007).

264

265 **2.1.2. Sistema nervoso parassimpático**

266

267 Ao contrário do SNS, o sistema nervoso parassimpático (SNP) atua durante
268 a fase de repouso, a fim de conservar e reestabelecer as reservas do organismo,
269 além de regular funções básicas como os sistemas digestivo e urinário
270 (MCCORRY, 2007; DEWEY, 2017).

271 O SNP também conta com dois grupos de neurônios para compor seu
272 sistema eferente. Os neurônios pré-ganglionares surgem a partir de núcleos
273 localizados no tronco encefálico e região sacral da medula espinhal (DEWEY,
274 2017), de modo que o SNP também pode ser chamado como sistema crânio-sacral.
275 Muito mais longos do que aqueles do SNS, os axônios dos neurônios pré-
276 ganglionares do SNP fazem sinapse nos neurônios pós-ganglionares em gânglios
277 terminais, localizados próximo ou no próprio tecido efetor. Assim, os neurônios pós-
278 ganglionares que se ligam as células efetoras são curtos, visto que estão próximos
279 ou já presentes no órgão alvo (PRADA, 2014).

280 Os neurônios pré-ganglionares que surgem a partir do tronco encefálico
281 (mesencéfalo e medula oblonga) saem do sistema nervoso central a partir dos
282 nervos cranianos III (oculomotor), VII (facial), IX (glossofaríngeo) e X (vago). Eles

283 são responsáveis pela inervação do olho, glândulas lacrimal e salivar, membrana
284 mucosa da cavidade nasal e órgãos das cavidades torácica e abdominal, como
285 coração (principalmente nos nodos sinoatrial e atrioventricular), pulmão, vesícula
286 biliar, intestino (formando os plexos de Meissner e Auerbach), dentre outros
287 (GUYTON e HALL, 2011a; GRIM e WAGNER, 2013). A inervação parassimpática
288 da cavidade pélvica ocorre graças aos neurônios pré-ganglionares que surgem a
289 partir do segundo, terceiro e quarto segmentos sacrais da medula espinhal, que
290 fazem sinapse com os gânglios próximos a bexiga, cólon distal e órgãos sexuais
291 (MCCORRY, 2007; GRIM e WAGNER, 2013).

292

293 **2.1.3. Neurotransmissores do sistema nervoso autônomo**

294

295 Os neurotransmissores comuns ao SNS e SNP são a acetilcolina (a partir
296 das fibras nervosas denominadas colinérgicas) e norepinefrina (pelas fibras
297 adrenérgicas). As fibras colinérgicas estão presentes nos neurônios pré-
298 ganglionares do SNS e SNP, fibras pós-ganglionares do SNP e fibras pós-
299 ganglionares simpáticas que inervam as glândulas sudoríparas (MCCORRY, 2007;
300 GRIM e WAGNER, 2013). Outro neurotransmissor é a epinefrina (também
301 conhecida como adrenalina), que é liberada juntamente com a norepinefrina em
302 situações de estresse na corrente sanguínea após estimulação da adrenal
303 (MCCORRY, 2007).

304 Estes três neurotransmissores se ligam a receptores específicos presentes
305 nas células dos tecidos efetores. A acetilcolina liga-se aos receptores colinérgicos
306 denominados nicotínicos (presentes nos corpos celulares de todos os neurônios
307 pós-ganglionares) e muscarínicos (localizados nas células dos tecidos efetores),
308 podendo estes últimos serem excitatórios ou inibitórios, de acordo com o tecido
309 encontrado) (GRIM e WAGNER, 2013).

310 Já os receptores adrenérgicos são denominados como α e β , nos quais se
311 ligam a adrenalina e norepinefrina (MCCORRY, 2007).

312

313

314

315

316 **2.2. Controle de temperatura**

317

318 Os mamíferos e as aves são animais homeotérmicos, isto é, mantêm uma
319 temperatura central relativamente constante independente da temperatura
320 ambiental. Todavia, para que esta constância aconteça, o organismo deve possuir
321 meios que ajudem a controlar sua temperatura, sendo esta denominado
322 termorregulação (BISSONNETTE, 1993).

323 O hipotálamo consiste no regulador mais importante da temperatura
324 corporal, sendo esta regulação térmica uma das principais funções do SNA
325 (BISSONNETTE, 1993; BRAZ, 2005). Os neurônios localizados na porção anterior
326 no hipotálamo (sobretudo na área hipotalâmica pré-óptica) têm a capacidade de
327 reconhecer a variação da temperatura corporal. Diante de um aumento de
328 temperatura, a porção anterior do hipotálamo é ativada para que haja vasodilatação
329 periférica (GUYTON e HALL, 2011b) e, ao contrário, em situações em que é
330 necessária a conservação da temperatura, a ativação da região posterior do
331 hipotálamo promove vasoconstrição periférica (PRADA, 2014).

332 Além do hipotálamo, há ainda receptores em outros locais que também
333 contribuem para o reconhecimento da variação de temperatura, como os receptores
334 sensoriais para o calor e frio presentes na pele e mucosas e os receptores corporais
335 profundos na medula espinhal, vísceras abdominais e nas grandes veias torácicas
336 e abdominais (GUYTON e HALL, 2011b).

337 Diante de situações em que há a elevação da temperatura corporal, ocorre
338 a inibição dos centros posteriores do hipotálamo, com consequente vasodilatação
339 (o que promove aumento do fluxo sanguíneo resultando na dissipação do calor para
340 o ambiente) e aumento de sudorese (BRAZ, 2005; KELLOGG JR, 2006; GUYTON
341 e HALL, 2011b). Todavia, diante do reconhecimento da necessidade de
342 conservação do calor, centros simpáticos hipotalâmicos posteriores são
343 estimulados, o que resulta em vasoconstrição da pele, piloereção e aumento da
344 produção de calor corporal, por meio de calafrios ou pela termogênese química
345 (BRAZ, 2005; GUYTON e HALL, 2011b).

346 A vasoconstrição consiste no primeiro e mais eficiente meio de conservação
347 de calor diante de situações de hipotermia. Sabe-se que em regiões
348 termossensíveis (como mãos, pés, lábios e nariz), o fluxo sanguíneo é dividido em

349 nutricional (formados pelos capilares) e termorregulatório (devido aos shunts
350 arteriovenosos), sendo estes últimos sensíveis a norepinefrina. A partir do
351 reconhecimento de diminuição de temperatura pelos receptores de frio, estímulos
352 nervosos percorrem as fibras delta-A até o hipotálamo, que resulta no estímulo do
353 SNS, com conseqüente vasoconstrição (BISSONNETTE, 1993).

354 Quando apenas uma região limitada do corpo é submetida a uma mudança
355 de temperatura, como colocar apenas os pés ou as mãos na água fria, a reação de
356 vasoconstrição ocorre apenas localmente (KELLOGG JR, 2006). Este reflexo
357 cutâneo ocorre devido ao efeito direto da diminuição de temperatura sobre os vasos
358 sanguíneos desta região, sendo reconhecido pelos receptores cutâneos,
359 transmitidos para a medula espinhal, e que retornam para a mesma área de pele
360 afetada, sendo a intensidade determinada pelos centros hipotalâmicos (GUYTON
361 e HALL, 2011b).

362

363 **2.3. Teste de estresse ao frio**

364

365 Comprometimento do SNA sem sido demonstrado como importante fator
366 fisiológico, patofisiológico e clínico em diversas doenças que acometem humanos
367 (GRASSI e ESLER, 1999), como na hipertensão (ESLER, 2000), *diabetes mellitus*
368 (PEREGRINA-BARRETO et al., 2014), insuficiência renal crônica (CHOU e TSAI,
369 2016), doença renal policística (GRASSI et al., 2015), doença de Parkinson
370 (ORIMO et al., 2007), desordens metabólicas (cetoacidose diabética,
371 hipotireoidismo, hipoadrenocorticism) (CHESHIRE JR, 2016) e neurológicas
372 (lesão em medula espinhal e neuropatias periféricas, como na síndrome de Guillain-
373 Barré) (FEALEY, 2018). Estas doenças resultam no prejuízo da termorregulação
374 diante de baixas temperaturas (CHESHIRE JR, 2016).

375

376 Como a termorregulação é frequentemente alterada em desordens do SNA
377 (CHESHIRE JR, 2016), e o uso de imagens térmicas infravermelhas permite avaliar
378 a mudança da temperatura da superfície da pele (uma vez que está diretamente
379 relacionada com a perfusão), a termografia pode ser utilizada para avaliação da
380 integridade deste sistema (LEIJON-SUNDQVIST et al., 2017). Além disso, a
381 termografia tem como vantagens ser uma técnica não invasiva, sem necessidade
de contato, indolor, não gera insumos, de interpretação objetiva e independe do

382 nível de consciência do paciente (FREISE et al., 2008; BALBINOT et al., 2012;
383 MOLINÉ et al., 2017). O aumento da demanda por esses equipamentos, para fins
384 clínicos ou não, possibilitou a produção de aparelhos portáteis, de fácil manuseio e
385 custo acessível (GALVIN et al., 2006).

386 O teste de estresse ao frio (TEF) consiste em uma técnica simples, não
387 invasiva e precisa para avaliação de disfunções autonômicas (ANTONIO-RUBIO et
388 al., 2015), além de ser confiável, viável e econômica quando comparada com os
389 outros testes disponíveis para avaliação do SNA (UDDIN et al., 2013). Ela consiste
390 na indução de vasoconstrição de uma região específica do corpo (como pés ou
391 mãos) induzida por imersão em uma solução fria. A avaliação da intensidade de
392 vasoconstrição e tempo para vasodilatação por meio do estudo da variação de
393 temperatura desta superfície permite o registro do funcionamento do SNS.

394 Diferentes estudos têm sido realizados em humanos para avaliar a resposta
395 de pacientes com distúrbio autonômico após o TEF, como na doença de Parkinson
396 (ANTONIO-RUBIO et al., 2015), síndrome do tremor mão-braço (LASKAR e
397 HARADA, 2005), pacientes com grave comprometimento motor e intelectual
398 (SUZUKI et al., 2013), Síndrome de Raynaud (NAIDU et al., 1994) e *diabetes*
399 *mellitus* (BALBINOT et al., 2012). Além disso, já foi demonstrado que o TEF
400 também pode ser utilizado para prever o desenvolvimento de doenças futuras,
401 como hipertensão, por exemplo (WOOD et al., 1984).

402 Em cães, não há estudos que padronizem a curva de reaquecimento das
403 patas para realização e interpretação do TEF. Sobre a termorregulação das patas
404 de canídeos, há apenas um estudo realizado em raposas e lobos cinzentos
405 (HENSHAW et al. 1972), que concluíram que o mecanismo de controle de
406 temperatura no membro desses animais é altamente adaptado as baixas
407 temperaturas onde eles vivem, e diferem significativamente daqueles em humanos
408 e cães domésticos.

409 O gradiente térmico longitudinal, também denominado diferença dorsal-
410 distal, consiste na diferença de temperatura entre as extremidades dos dedos em
411 relação ao centro da mão (ANDERSON et al., 2007; PAULING et al., 2011).
412 Anderson et al. (2007) verificaram que diferença $>1^{\circ}\text{C}$ é específica para esclerose
413 sistêmica em humanos com doença de Raynaud. Além disso, segundo Pauling et
414 al. (2011), estudos com gradiente térmico longitudinal após o TEF devem ser

415 realizados para determinar sua aplicabilidade na avaliação da gravidade das
416 doenças, bem como monitorar a resposta terapêutica instituída.

417 Vários fatores intrínsecos ao teste, porém facilmente controlados na prática,
418 podem interferir na avaliação dos resultados, como a temperatura do ambiente
419 onde o teste será realizado, a temperatura da água, o tempo de imersão e região a
420 ser avaliada (LASKAR e HARADA, 2005). Há diversos estudos de TEF com
421 temperatura e tempo variados, como 0°C por 10 segundos (SUZUKI et al., 2013),
422 3 ± 1 °C por 2 minutos (MOLINÉ et al., 2017), 3 ± 2 °C por 2 minutos (ANTONIO-
423 RUBIO et al., 2015), $10\pm 0,5$ °C por 10 segundos (LEIJON-SUNDQVIST et al.,
424 2015), 10 °C por 5 minutos (NAIDU et al., 1994), 12 °C durante 5 minutos (Uddin et
425 al., 2013), 15 °C durante 1 minuto (DUPUIS, 1987; BALBINOT et al., 2012) e $20\pm 0,5$
426 °C durante 1 minuto (LEIJON-SUNDQVIST et al., 2017). Metodologias em relação
427 a execução durante a imersão também variam entre os estudos, com pesquisas em
428 que a extremidade testada entra em contato direto com a água, sendo
429 posteriormente seca (BHARARA et al., 2008; DAANEM et al., 2012), ou então ela
430 é envolvida em luvas, sendo posteriormente removidas para avaliação da
431 temperatura (ANDERSON et al., 2007; BRANDSTORM et al., 2013; ANBALAGAN
432 et al., 2021).

433 Para a realização do TEF, deve ser escolhido o menor tempo de imersão e
434 a maior temperatura da água, para que o paciente tenha o menor desconforto
435 possível (LASKAR e HARADA, 2005). Estudo piloto realizado por Dupuis (1987)
436 verificou que a temperatura da água abaixo de 10°C causou desconforto nos
437 indivíduos avaliados, de modo que o teste não foi bem tolerado. Além disso, o
438 mesmo autor observou que a temperatura acima de 10°C não influenciou o
439 resultado do teste. Baseado em extensa revisão de literatura, Laskar & Harada
440 (2005) afirmam que a temperatura da água entre 10°C e 15°C induz vasoconstrição
441 máxima pelo frio sem que haja vasodilatação, dor e o fenômeno rebote, sendo o
442 tempo de imersão de 5 minutos suficiente para a realização do TEF.

443

444

445

446

447

448 **3. OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS**

449 Este estudo tem como objetivo geral determinar o tempo necessário para o
450 reaquecimento da região plantar, bem como a curva de reaquecimento e o
451 gradiente térmico longitudinal em cães machos e fêmeas saudáveis.

452 Para isso, os objetivos específicos deste estudo são:

- 453 – Determinar a temperatura e o gradiente térmico longitudinal da região
454 plantar antes da imersão em água;
- 455 – Determinar a temperatura e o gradiente térmico longitudinal da região
456 plantar logo após o período de imersão;
- 457 – Avaliar a temperatura e o gradiente térmico longitudinal da região plantar
458 a cada 3 minutos após o período de imersão até 30 minutos de avaliação
459 para determinação da curva de reaquecimento;
- 460 – Determinar qual o tempo necessário para o reaquecimento da região
461 analisada;
- 462 – Determinar se o gênero é um fator de interferência no tempo de
463 reaquecimento;
- 464 – Determinar se haverá o envolvimento sistêmico durante a realização do
465 TEF, por meio da avaliação da frequência cardíaca, pressão arterial,
466 temperatura periférica e central no momento da imersão, a partir da
467 comparação dos valores destes parâmetros antes da imersão bem como
468 logo após o período de imersão e a cada 10 minutos, durante 30 minutos
469 de avaliação.

470

471 **4. MATERIAL E MÉTODOS**

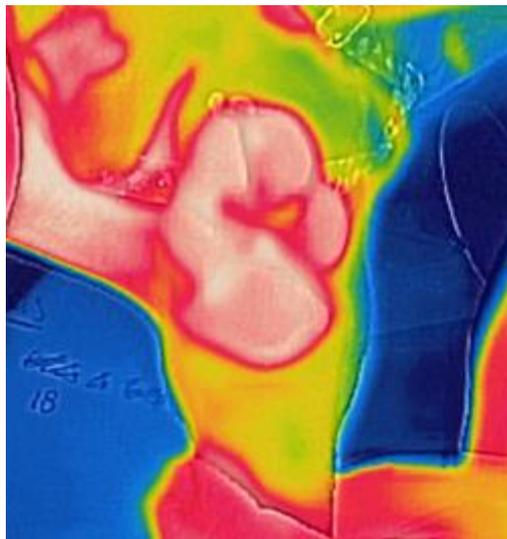
472 Para a realização do estudo foram utilizados 34 cães saudáveis, com base
473 no cálculo do tamanho amostral a partir do teste T (amostras independentes e $\sigma_1^2 =$
474 σ_2^2), em que, para detecção da diferença de 1 desvio padrão, com diferença mínima
475 significativa de 1°C e poder do teste de 80%, cada grupo amostral foi formado por
476 17 cães. Os animais foram distribuídos em dois grupos conforme o gênero (fêmeas;
477 machos).

478 Como critério de inclusão no estudo, os animais submetidos ao experimento
479 deveriam ser saudáveis, assegurado a partir da avaliação de exame físico completo
480 e realização de hemograma e exames bioquímicos (ALT, creatinina e albumina).
481 Todos os cães deveriam ter entre 2 a 8 anos de idade, possuir pelame curto, pesar
482 entre 10 a 20 kg e estar com escore corporal ideal (4 ou 5/9) (LAFLAMME, 1997),
483 além de apresentarem comportamento manso e calmo, sendo estes parâmetros
484 comportamentais avaliados de maneira objetiva a partir do questionário de
485 avaliação de comportamento em cães (C-BARQ) validado para o português (ROSA
486 et al., 2017). Apenas aqueles que apresentaram média das seções
487 medo/ansiedade e excitabilidade < 3 foram considerados aptos para participação
488 deste estudo.

489 Após a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da
490 UFMS (protocolo nº 1.062/2019), consentimento do proprietário por meio de
491 assinatura do Termo de Livre Consentimento, análise do questionário C-BARQ e
492 confirmação de saúde dos animais, os mesmos eram encaminhados para
493 realização do teste de estresse ao frio. Este teste era realizado em sala com
494 temperatura de $23\pm 1^{\circ}\text{C}$, uma vez que esta temperatura é padronizada para
495 avaliação da regulação da temperatura da pele pelo sistema nervoso simpático em
496 humanos (IWASE et al., 2002). Os cães eram mantidos por 15 minutos nesta sala
497 em repouso para aclimatação, sendo mantido em decúbito lateral ou dorsal, uma
498 vez que o contato da região plantar com o chão altera a temperatura do mesmo
499 (CLARK e CALCINA-GOFF, 1996). Após este período, os animais eram submetidos
500 ao TEF, que consistia na imersão de um membro pélvico até a metade do metatarso
501 em água, de modo que toda a região plantar ficasse submersa. A temperatura da
502 água a ser utilizada no teste era atingida por meio da introdução de cubos de gelo
503 em um recipiente com água a temperatura ambiente. Com o auxílio de um
504 termômetro, a temperatura era monitorada até alcançar $12\pm 1^{\circ}\text{C}$. Neste momento,
505 os cubos de gelo eram retirados e a água era armazenada em recipiente térmico.
506 Durante a realização do teste, a temperatura da água era monitorada
507 continuamente com termômetro, durante o período em que a extremidade do
508 membro ficava submersa durante 5 minutos. Após o tempo de imersão, o coxim era
509 cuidadosamente seco com papel toalha.

510 As imagens termográficas eram realizadas por meio do termógrafo FLIR
511 One® Pro, disposto a 30 cm das regiões a serem fotografadas, sendo mantida em
512 um ângulo de 90° para a captura. A resolução térmica do termógrafo é $>0.07^{\circ}\text{C}$,
513 acurácia de $\pm 1\%$ e resolução da imagem térmica de 4.800 pixels. A termografia era
514 realizada imediatamente antes do início do teste (momento “antes”), logo após
515 secar os membros depois do período de imersão (momento “após”), e
516 posteriormente a cada 3 minutos, durante 30 minutos de avaliação. Imagens do
517 membro contralateral, em todos os momentos, também eram realizadas (Figura 1),
518 a fim de controle e comparação.

519 As imagens termográficas foram analisadas a partir do software Flir Tools®.
520 A temperatura da superfície da pele foi obtida a partir da média de temperatura de
521 cinco pontos de interesse (Figura 2). O gradiente térmico longitudinal foi mensurado
522 a partir da média da diferença de temperatura de cada ponto de interesse dos
523 dígitos em relação com o ponto da região do coxim metatarsal.



524

525 **FIGURA 1.** Imagem termográfica da região plantar do membro avaliado durante o
526 teste de estresse ao frio, onde era obtida a temperatura dos cinco pontos de
527 interesse (região central de cada coxim digital e do coxim plantar).

528

529 Os parâmetros frequência cardíaca, pressão arterial (sistólica), temperatura
530 timpânica (periférica) e temperatura retal eram mensurados e registrados

531 imediatamente antes do início do teste, logo após o período de imersão, e
532 posteriormente a cada 10 minutos, durante 30 minutos de avaliação, a fim de
533 determinar se haveria envolvimento sistêmico no controle da temperatura. A
534 pressão arterial foi mensurada por meio de doppler vascular (DV 610B®) e
535 manguito, sendo este com largura correspondente a 40% da circunferência do
536 antebraço, alocado no membro torácico conectado a um esfigmomanômetro.

537 Média, desvio-padrão e intervalo de confiança das temperaturas em cada
538 momento foram obtidas a fim de se realizar a padronização de reaquecimento. Foi
539 realizado o teste de Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade dos dados obtidos.
540 Para avaliação dos dados paramétricos, foi utilizado ANOVA de três critérios,
541 seguido pelo teste de Tukey. A análise estatística foi realizada com auxílio do
542 software GraphPad Prism, sendo $p < 0,05$ considerado significativo.

543

544

545 **5. RESULTADOS**

546 Os cães participantes do estudo apresentaram idade, peso, e resultado do
547 escore C-BARQ conforme demonstrado na tabela 1.

548

549 **Tabela 1.** Perfil dos cães participantes do estudo de acordo com o gênero, idade,
550 peso e resultado do escore C-BARQ para medo/ansiedade e excitabilidade.

	Machos	Fêmeas
Sexo	17 (50%)	17 (50%)
Idade (anos)^a	4,6 (1,6)	4,1 (1,8)
Peso (quilos)^a	12,7 (1,6)	12,2 (2,8)
C-BARQ		
Medo/ansiedade^b	2,0 (0)	2,0 (1,0)
Excitabilidade^b	2,5 (1)	2,0 (0,6)

551 ^a Média (desvio-padrão)

552 ^b Mediana (intervalo interquartil 25, 75)

553

554 Não houve diferença estatística na temperatura, na diferença de temperatura
555 longitudinal-distal e nos parâmetros fisiológicos entre machos e fêmeas em nenhum

556 dos momentos avaliados (valor-p>0.05). Assim, os dados foram agrupados e
557 analisados conjuntamente.

558 A temperatura inicial média dos coxins testados foi de 29.0±3.4°C e dos
559 coxins da extremidade controle foi de 29.1±3.4°C, não havendo diferença
560 estatística entre eles (p>0.9999) (tabela 2). Imediatamente após a realização do
561 teste do estresse ao frio, a comparação entre as temperaturas das duas
562 extremidades foi significativamente diferente (p<0.0001), com o coxim testado
563 alcançando média e desvio-padrão de 19.9±3.1°C e o controle de 28.8±3.7°C,
564 havendo aumento progressivo da temperatura ao longo do tempo de avaliação. A
565 partir do momento 27 minutos, a temperatura do membro testado voltou a ser
566 estatisticamente igual à do controle (teste: 28.3±5.1°C; controle: 31.3±3.8°C,
567 p=0.1341).

568

569 **Tabela 2.** Média, desvio-padrão, intervalo de confiança (95%) e valor-p da
570 temperatura dos coxins submetidos ao teste de estresse ao frio e dos coxins do
571 membro controle antes, após e a cada 3 minutos, durante 30 minutos de avaliação
572 e valor-p da comparação entre os coxins testado e controle.

Tempo	Teste				Controle				Teste vs Controle
	Média	Desvio-padrão	IC 95%	Valor-p*	Média	Desvio-padrão	IC 95%	Valor-p*	Valor-p**
Antes	29.0	3.4	27.8 – 30.1	-	29.1	3.4	27.9 – 30.3	-	>0.9999
Após	19.9	3.1	18.9 – 21.0	<0.0001	28.8	3.7	27.5 – 30.2	>0.9999	<0.0001
3	23.8	2.9	22.8 – 24.8	<0.0001	31.2	3.3	30.1 – 32.4	0.0002	<0.0001
6	25.2	3.9	23.9 – 26.6	<0.0001	31.5	3.7	30.2 – 32.8	<0.0001	<0.0001
9	25.5	3.7	24.2 – 26.8	<0.0001	30.9	3.4	29.7 – 32.2	0.0088	<0.0001
12	26.2	4.3	24.7 – 27.7	0.0184	31.3	3.2	30.1 – 32.4	0.0003	<0.0001
15	26.4	4.1	25.0 – 27.8	0.0138	31.1	3.3	30.0 – 32.3	<0.0001	<0.0001
18	27.1	4.3	25.6 – 28.5	0.1464	31.4	3.5	30.2 – 32.6	<0.0001	0.0003
21	27.3	4.7	25.6 – 29.1	0.3859	31.6	3.7	30.2 – 32.9	<0.0001	0.0033
24	27.7	4.8	26.0 – 29.4	0.7004	31.3	3.9	29.9 – 32.7	<0.0001	0.0149
27	28.3	5.1	26.5 – 30.2	0.9971	31.3	3.8	29.9 – 32.6	0.0003	0.1341
30	28.3	5.0	26.5 – 30.0	0.9941	31.0	3.7	29.7 – 32.3	0.0008	0.1449

573 *Comparação de cada momento em relação ao “antes”.

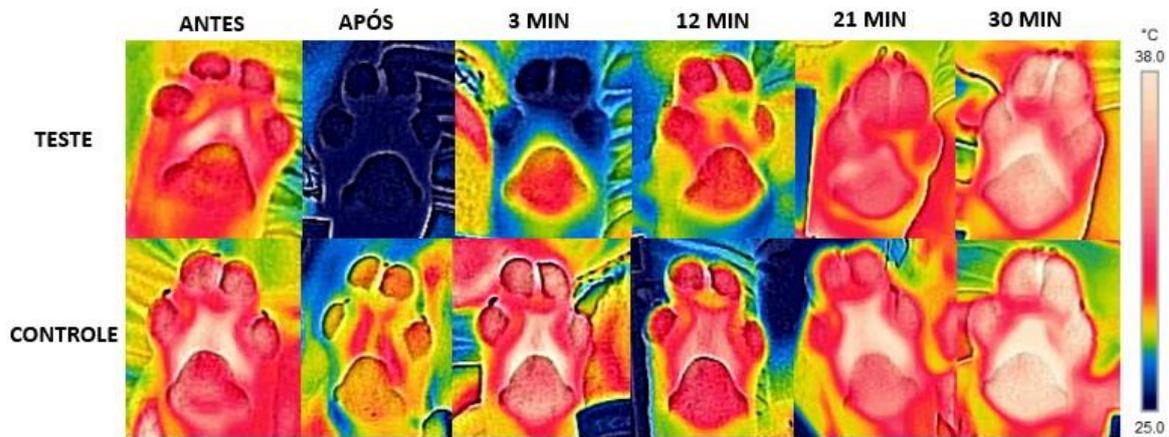
574 **Comparação entre os coxins testados e controles no respectivo momento.

575

576 Quando analisada apenas a extremidade em que foi realizado o teste, a
577 diferença estatística em relação a temperatura inicial persistiu do momento “após”

578 até 15 minutos, voltando a temperatura estatisticamente igual a inicial a partir do
 579 momento 18 minutos ($27.1 \pm 4.3^\circ\text{C}$, valor- $p=0.1464$) (Figura 3 A). Em relação a
 580 extremidade controle, verifica-se que, a partir do momento 3 minutos, há um
 581 aumento significativo da temperatura em comparação com o momento inicial
 582 (antes: $29.1 \pm 3.4^\circ\text{C}$; 3 minutos: $31.2 \pm 3.3^\circ\text{C}$, valor- $p=0.0002$) (Figura 3), se
 583 mantendo até o término da avaliação (Figura 3 B).

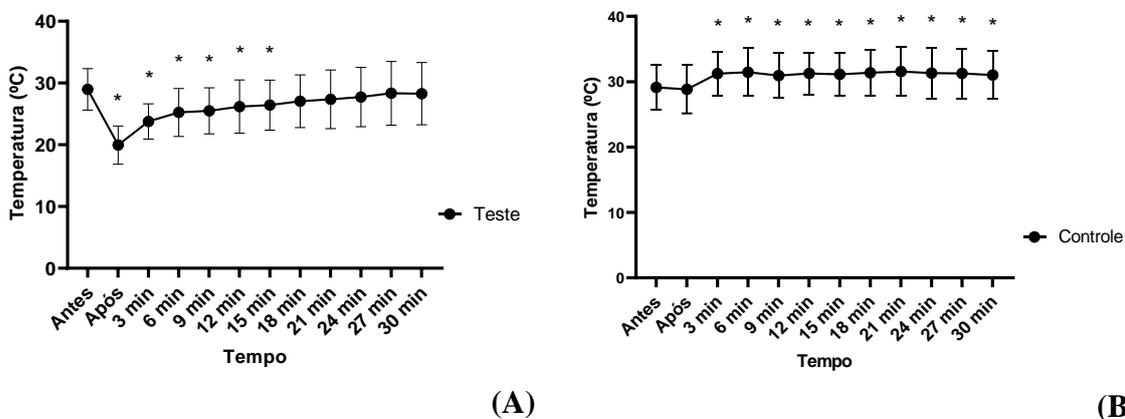
584



585

586 **Figura 2.** Imagens termográficas da extremidade testada (teste) e contralateral
 587 (controle) durante a realização do teste de estresse ao frio. É possível observar
 588 aumento de temperatura da extremidade controle a partir do momento 3 minutos,
 589 em relação ao momento “antes”.

590



591 **Figura 3.** Média e desvio-padrão da temperatura dos coxins da extremidade
 592 submetida ao teste de estresse ao frio (A) e da extremidade controle (B) antes, após

593 e a cada 3 minutos durante 30 minutos de avaliação. O asterisco (*) representa os
 594 momentos em que houve diferença significativa de temperatura em relação ao
 595 momento anterior a imersão da extremidade do membro testado (momento
 596 “antes”).

597

598 A diferença de temperatura longitudinal-distal durante o reaquecimento dos
 599 quatro dígitos está apresentada na tabela 3.

600 **Tabela 3.** Diferença de temperatura longitudinal-distal da extremidade submetida
 601 ao teste de estresse ao frio antes, após e a cada 3 minutos, durante 30 minutos de
 602 avaliação.

Momento	Dígito 1		Dígito 2		Dígito 3		Dígito 4	
	Média±DP	IC 95%	Média±DP	IC 95%	Média±DP	IC 95%	Média±DP	IC 95%
Antes	0.4±1.0	0.0-0.8	0.6±1.3	0.2-1.1	0.7±1.4	0.3 - 1.2	0.9±1.3	0.4 - 1.3
Após	0.1±1.4	-0.4-0.6	0.4±0.8	0.1-0.7	0.6±1.3	0.1 - 1.0	0.5±1.2	0.1 - 0.9
3 min	-0.3±1.1a	-0.7-0.0	0.4±0.9bc	0.0-0.7	0.4±1.4abc	-0.1 - 0.9	0.3±0.9bc	0.0 - 0.7
6 min	-0.3±1.4	-0.8-0.2	0.3±1.1	-0.2-0.7	0.7±1.6	0.1 - 1.2	0.1±1.7	-0.5 - 0.7
9 min	-0.2±1.6	-0.8-0.3	0.2±1.0	-0.2-0.6	0.8±1.6	0.2 - 1.4	0.1±1.3	-0.4 - 0.5
12 min	-0.3±1.6	-0.9-0.2	0.2±1.1	-0.2-0.6	0.5±1.7	-0.1 - 1.1	0.2±0.9	-0.1 - 0.6
15 min	-0.1±1.3a	-0.6-0.4	0.4±1.2ab	0.0-0.8	0.8±1.3b	0.4 - 1.3	0.4±1.0ab	0.0 - 0.8
18 min	-0.1±1.0a	-0.5-0.2	0.7±1.2b	0.3-1.1	0.9±1.2b	0.5 - 1.3	0.3±0.9ab	0.0 - 0.7
21 min	0.0±0.9a	-0.3-0.3	0.7±1.1b	0.3-1.1	0.8±1.3b	0.4 - 1.3	0.5±0.9ab	0.2 - 0.8
24 min	0.1±0.8a	-0.2-0.3	0.8±0.8bc	0.6-1.1	1.0±1.0bd	0.6 - 1.3	0.4±0.7ac	0.2 - 0.6
27 min	0.2±0.9a	-0.1-0.5	0.7±1.0ab	0.3-1.0	1.0±1.0b	0.6 - 1.4	0.5±0.9ab	0.2 - 0.8
30 min	0.0±1.0a	-0.3-0.4	0.7±1.0bc	0.4-1.1	1.0±1.1bc	0.6 - 1.3	0.6±0.8abc	0.3 - 0.8

603 Legenda: desvio-padrão (DP); intervalo de confiança a 95% (IC 95%); minutos (min).

604 Letras diferentes representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias dos dígitos
 605 no mesmo momento

606

607 Não foi observada diferença estatística nos parâmetros frequência cardíaca,
 608 pressão arterial sistólica, temperatura retal e temperatura periférica quando
 609 comparados os momentos após, 10, 20 e 30 minutos em relação ao momento antes
 610 (tabela 4).

611

612

613

614

615 **Tabela 4.** Frequência cardíaca (bpm), pressão arterial sistólica (mmHg),
 616 temperatura retal (°C) e periférica (°C) avaliadas antes, após, e a cada 10 minutos
 617 até 30 minutos após a realização do teste de estresse ao frio.

618

Parâmetro	Tempo	Média	Desvio-padrão	Intervalo de confiança	Valor-p*
Frequência cardíaca	Antes	114	21	106 – 121	-
	Após	113	16	108 – 119	>0.9999
	10 min	108	17	101 – 115	0.7424
	20 min	105	19	97 – 112	0.3092
	30 min	104	17	96 – 111	0.2343
Pressão arterial sistólica	Antes	142	39	128 – 157	-
	Após	138	36	125 – 152	0.9941
	10 min	140	39	125 – 154	0.9991
	20 min	138	37	123 – 152	0.9906
	30 min	141	40	125 – 156	>0.9999
Temperatura retal (°C)	Antes	38.8	0.4	38.7 – 39.0	-
	Após	38.9	0.4	38.7 – 39.0	0.9810
	10 min	38.8	0.4	38.7 – 38.9	>0.9999
	20 min	38.7	0.4	38.6 – 38.9	0.8949
	30 min	38.7	0.3	38.6 – 38.8	0.8813
Temperatura periférica (°C)	Antes	37.3	0.9	36.9 – 37.6	-
	Após	37.0	1.1	36.6 – 37.4	0.7689
	10 min	36.9	0.9	36.6 – 37.3	0.6301
	20 min	36.9	0.9	36.6 – 37.2	0.6215
	30 min	36.8	0.9	36.5 – 37.1	0.3692

619 *Diferença entre cada momento em relação ao “momento antes”.

620

621 **6. DISCUSSÃO**

622 Com base na análise dos resultados, verificou-se que, em cães, o gênero
 623 não interferiu na resposta de reaquecimento após o teste de estresse ao frio. Além
 624 disso, o teste a 12°C durante 5 minutos de imersão não levou a alteração nos
 625 parâmetros de frequência cardíaca, pressão arterial sistólica, temperatura central
 626 ou periférica, demonstrando não causar interferência nos parâmetros
 627 cardiovasculares avaliados durante a realização deste teste.

628 Em humanos, sabe-se que há correlação entre as regiões dorsal e palmar
 629 das mãos, sendo a região palmar mais quente. Neste estudo, as mensurações de
 630 temperatura foram realizadas exclusivamente na região plantar, pela característica
 631 glabra da superfície. Em humanos, as regiões glabras como as palmas e solas são
 632 inervadas exclusivamente por nervos simpáticos noradrenérgicos vasoconstritores,
 633 comparados às áreas de pele não-glabras, que são inervadas por ambos os ramos

634 do sistema nervoso autônomo. Esta distinção é fundamental, porque as
635 anastomoses artério-venosas existem quase que exclusivamente na pele glabra,
636 onde são inervadas exclusivamente e pesadamente por fibras vasoconstritoras
637 simpáticas. Em cães, o leito vascular da extremidade do membro é inervado por
638 receptores do tipo alfa constritores e receptores colinérgicos e adrenérgicos
639 dilatadores estão minimamente presentes, sem evidência de fibras dilatadoras
640 autonômicas colinérgicas (GREEN et al., 1956).

641 Os estudos sobre a temperatura e padrão de reaquecimento das mãos
642 datam de 1950, e desde então, inúmeras pesquisas vêm sendo realizadas a fim de
643 compreender a curva de reaquecimento. Entretanto, o processo de controle de
644 temperatura é considerado complexo e não completamente compreendido
645 (LEIJON-SUNDQVIST et al., 2017). Em humanos, sabe-se que diversos fatores
646 podem interferir na resposta ao teste de estresse ao frio (LEIJON-SUNDQVIST et
647 al., 2015), como idade (LINDSELL, GRIFFIN, 2002; LAHIRI et al., 2020),
648 condicionamento físico (KERAMIDAS et al., 2010), habituação a temperaturas
649 ambientais mais baixas (LIVINGSTONE, 1976; O'BRIEN, 2005; BRANDSTROM
650 et al., 2013; NORHEIM et al., 2018), estresse (MOLINE et al., 2017) e variações
651 intrapessoais (quando as mensurações são realizadas em dias diferentes)
652 (DUPUIS, 1987; ANDERSON et al., 2007; MANSON et al., 2003; LEIJON-
653 SUNDQVIST et al., 2015) e interpessoais (BARTELINK et al., 1993a;
654 BRANDSTROM et al., 2013). Desse modo, ainda são realizados estudos buscando
655 a padronização dos mapas termográficos dos membros em pessoas sadias (GATT
656 et al., 2015; NORHEIM et al., 2018). No presente estudo, procurou-se padronizar o
657 grupo amostral, sendo selecionados animais jovens (2-8 anos), de mesmo escore
658 corporal, temperamento, e pelagem, além de estarem sob as mesmas condições
659 climáticas, por habitarem a mesma região demográfica.

660 No presente estudo, não foi observado efeito do gênero sobre a curva de
661 reaquecimento. Estudos em humanos, entretanto, apresentam resultados
662 controversos (BARTELINK et al., 1993a; POLLOCK et al., 1993; UDDIN et al., 2014;
663 LAHIRI et al., 2020). Alguns estudos demonstram que mulheres têm menor
664 velocidade no reaquecimento do que os homens (BARTELINK et al., 1993a;
665 POLLOCK et al., 1993; UDDIN et al., 2014). Todavia, segundo Geuters et al. (2005)

666 e Lahiri et al. (2020), não há diferença no padrão de reaquecimento entre os
667 gêneros. Uma hipótese é a de que, se os indivíduos possuírem a mesma
668 porcentagem de gordura corporal e área de superfície corpórea, a resposta à
669 exposição ao frio é a mesma (TIKUISIS et al., 2000). Isso pode justificar porque no
670 presente estudo não houve diferença, uma vez que os animais analisados
671 apresentaram tamanhos e escores corporais semelhantes entre si.

672 Uma das principais características da imagem térmica na medicina é a sua
673 simetria de temperatura em indivíduos sadios (VIANNA et al., 2020). Nos cães
674 deste estudo, no momento basal, não foi verificada diferença estatística de
675 temperatura entre as extremidades direita e esquerda, assim como nas mãos e pés
676 em humanos (GATT et al., 2015). Em pessoas saudáveis, antes da realização do teste
677 de estresse ao frio, a temperatura varia entre os estudos, sendo descrito média de
678 $31.1 \pm 2.3^\circ\text{C}$ (IC 95%: $30.2-32.1^\circ\text{C}$) (BRANDSTROM et al., 2008), $32.2 \pm 1.7^\circ\text{C}$
679 (LEIJON-SUNDQVIST et al., 2017), 30.6°C (ISHITAKE et al., 2011) e $30.9 \pm 3.5^\circ\text{C}$
680 (ANTONIO-RUBIO et al., 2015). Nos cães deste estudo, a temperatura basal foi de
681 $29.0 \pm 3.1^\circ\text{C}$ (IC95%: $27.8-30.1^\circ\text{C}$). Em pessoas com distúrbios vasculares e
682 neuropáticos, todavia, a temperatura basal é mais baixa, como observado na
683 neuropatia diabética ($28.1 \pm 1.34^\circ\text{C}$) (BHARARA et al., 2008), na doença de
684 Parkinson ($28.9 \pm 3.4^\circ\text{C}$) (ANTONIO-RUBIO et al., 2015) e na síndrome da vibração
685 braço-mão (27.4°C) (ISHITAKE et al., 2011).

686 Imediatamente após a realização do teste, a temperatura foi de $19.9 \pm 3.1^\circ\text{C}$
687 (IC95%: $18.9-21.0^\circ\text{C}$), semelhante ao observado em humanos saudáveis submetidos
688 ao teste de estresse ao frio por Leijon-Sundqvist et al. (2015) ($20.1 \pm 1.7^\circ\text{C}$) e
689 Brandstrom et al (2008) (18°C). Todavia, foi observado que, nos cães, houve queda
690 da temperatura de 9.1°C , resultados maiores do que o verificado por Norheim et al.,
691 (2018) (diminuição de 6.7°C), o que pode ser atribuído a diferentes metodologias
692 empregadas, uma vez que este último usou temperatura maior (20°C) e menor
693 tempo de exposição (1 minuto). Isso fica muito evidente ao comparar os resultados
694 com o estudo de Geurts et al. (2005), que, ao realizar o teste com imersão das
695 mãos em água a 8°C durante 30 minutos, verificaram na temperatura mais baixa
696 ($14.2 \pm 1.9^\circ\text{C}$) logo após a imersão em relação ao presente estudo, demonstrando
697 a elevada variabilidade na temperatura de acordo com a metodologia empregada.

698 Há grande variabilidade na resposta de reaquecimento, mesmo entre
699 indivíduos sadios (LEIJON-SUNDQVIST et al., 2015). Desse modo, várias
700 metodologias são utilizadas durante a execução dos estudos a fim de diminuir esta
701 variabilidade. Uma delas se baseia na formação de grupos com base nas
702 temperaturas iniciais próximas entre si, formando os grupos reaquecimento rápido
703 e reaquecimento lento (BRANDSTORM et al., 2008; LEIJON-SUNDQVIST et al.,
704 2015), uma vez que sabe-se que indivíduos que apresentam menor temperatura
705 média das mãos antes do teste têm a resposta de reaquecimento mais lento
706 (NORHEIM et al., 2018). Outra abordagem utilizada é feita a partir da classificação
707 da temperatura durante a recuperação, dividindo a população geral em três
708 subgrupos, com resposta de reaquecimento normal, com atraso moderado ou
709 atraso acentuado (DUPUIS, 1987; BRANDSTROM et al., 2008; BRANDSTROM et
710 al., 2013) ou resposta lenta, moderada e acentuada (NORHEIM et al., 2018). Por
711 este ser o primeiro estudo sobre padrão de reaquecimento em cães, nós buscamos
712 obter uma visão geral do padrão termográfico após o teste de estresse ao frio. A
713 partir destes resultados, estudos futuros podem permitir a classificação dos animais
714 em diferentes categorias, assim como realizado em humanos.

715 A comparação da curva de reaquecimento dos cães com estudos em
716 humanos é difícil, devido a diferentes abordagens metodológicas. Entretanto, em
717 estudos com semelhanças de temperatura e tempo, como de Dupuis (1987), o
718 reaquecimento começou nas regiões mais distais das extremidades, sendo menor
719 nas regiões proximais. Lindsell e Griffin (2002), realizando o teste a 15°C durante
720 5 minutos, verificaram aumento de 4°C em 163 segundos, semelhante ao
721 observado em cães deste estudo, em que houve aumento de 3.7°C em 180
722 segundos (3 minutos). No momento 6 minutos, a temperatura da extremidade
723 testada foi semelhante à de pessoas sadias de reaquecimento normal do estudo
724 de Brandstorm et al. (2008), ao utilizar temperatura de 10°C durante 10 minutos de
725 imersão.

726 Uma das vantagens do teste de estresse ao frio é que, ao final, é possível a
727 obtenção de um gráfico que indica indiretamente a circulação periférica (Voelter-
728 Mahlkecht et al., 2005). Verificamos um padrão de reaquecimento, o que também
729 foi observado por Leijon-Sundqvist et al. (2015) em humanos sadios.

730 Não existe um consenso em relação ao tempo necessário para o
731 reaquecimento, entretanto, alguns autores sugerem que 10 a 15 minutos seriam
732 suficientes para o reaquecimento das mãos (CHLEBICKA et al., 2013; ALLEN et
733 al., 2014; CAPPELLA et al., 2015; SCOLNIK et al., 2016; HORIKOSHI et al., 2016).
734 Manson et al. (2003) consideraram reaquecimento normal aqueles que tiveram
735 aumento de 4°C em 300 segundos em teste a 15°C durante 5 minutos. Ao realizar
736 o teste a 20°C por 1 minuto, com 260 soldados sadios, Norhein et al. (2018)
737 observaram recuperação da temperatura em 4 minutos em 90% dos participantes.
738 Brandstorm et al. (2008) verificaram que, em 15 minutos, as pessoas classificadas
739 como reaquecimento normal já haviam retornado a temperatura basal, entretanto,
740 aqueles dos grupos lento e moderado, trinta minutos não foram suficientes para
741 restabelecimento da temperatura. Diferentemente de Brandstorm et al. (2008),
742 Bartelink et al. (1993a) não classificaram os indivíduos de acordo com a velocidade
743 de reaquecimento, e eles observaram que, a 16°C durante 5 minutos de imersão,
744 as pessoas sadias não tiveram o restabelecimento da temperatura basal durante
745 os 20 minutos de avaliação. Ao comparar a curva de reaquecimento dos cães com
746 o estudo de Dupuis (1987), que realizou o teste nas mesmas condições (12°C
747 durante 5 minutos), é possível verificar que em cães o reaquecimento foi mais lento
748 do que em humanos. De acordo com sua classificação, a temperatura média em
749 indivíduos com a recuperação normal é de 28°C ou mais dentro de 15 min após a
750 realização do teste, o que não ocorreu nestes cães, em que, no momento 15
751 minutos, apresentaram temperatura média de 26.4±4.1°C (25.0 – 27.8°C). Desse
752 modo, se aplicada a classificação utilizada por Dupuis (1987), os cães seriam
753 classificados como reaquecimento de “atraso moderado”, uma vez que os mesmos
754 alcançaram a temperatura média ≥28°C dentro de 16-30 minutos após o teste.

755 É difícil explicar o mecanismo exato para justificar este atraso na
756 recuperação da temperatura dos cães em relação aos seres humanos. Fatores
757 biológicos e hemodinâmicos podem influenciar no resultado do teste, como índice
758 de massa corporal, quantidade de tecido subcutâneo e o volume da mão
759 (BARTELINK et al., 1993a). Os cães podem também ter maior tônus vascular, o
760 que resultaria em menor fluxo sanguíneo e menor taxa de recuperação da
761 temperatura após o teste, uma vez que em humanos a variabilidade intraindividual
762 pode ser atribuída a diferentes tônus simpático durante a realização do TEF

763 (ANDERSON et al., 2007). Outra hipótese pode ser atribuída a menor espessura da
764 epiderme, quando comparado com o de humanos, o que resultaria em menor
765 capacidade de retenção de temperatura (KÜLS et al., 2017). Além disso, sabe-se
766 que existe uma correlação positiva entre a taxa de recuperação da temperatura e
767 a capacitância (YOSHIDA-AMANO et al., 2017), o que poderia justificar a diferença
768 entre a velocidade de reaquecimento entre humanos e cães, uma vez que este
769 último apresenta menor capacitância (relacionada com a quantidade de água no
770 estrato córneo). Além disso, diferentes temperaturas da água ou tempo de
771 exposição entre os estudos podem justificar estas diferenças na velocidade de
772 recuperação. A temperatura ambiente distinta entre os estudos também influencia
773 de maneira significativa na velocidade de reaquecimento, um vez que já foi
774 demonstrado que 4°C de diferença entre as salas reduziu de 92% a 8% a
775 porcentagem de pessoas que tiveram o reaquecimento normal após 12 minutos de
776 imersão em água fria (CLEOPAS et al., 1982). Desse modo, para evitar que
777 influências externas, como temperatura e tempo de exposição ao frio alterem a
778 resposta de reaquecimento, é importante que os pesquisadores sigam
779 metodologias semelhantes durante a execução deste teste, a fim de permitir a
780 comparação entre as pesquisas.

781 Os vasos sanguíneos apresentam elevada sensibilidade a estímulos
782 exógenos e endógenos (BARTELINK et al, 1993b), o que pode explicar o elevado
783 desvio-padrão observado tanto em humanos, como nos animais deste estudo. A
784 variação endógena na resposta pode ser atribuída à variabilidade interindividual,
785 não podendo ser controlada. Sob condições fisiológicas, o fluxo sanguíneo varia
786 muito em um curto período de tempo, graças a rica presença de anastomoses
787 arteriovenosas nas extremidades (LEIJON-SUNDQVIST et al., 2017).

788 Em humanos, apesar de não haver diferença na temperatura entre os lados
789 direito e esquerdo (LINDESSELL et al., 2002; GATT et al., 2015), já foi observado
790 diferença no padrão de reaquecimento entre os membros após a realização do
791 teste de estresse ao frio (LEIJON-SUNDQVIST et al., 2015). No presente estudo,
792 entretanto, optou-se por observar se haveria mudança de temperatura no membro
793 contralateral não submetido ao teste. O controle vasomotor é realizado tanto por
794 sinais centrais como periféricos (ADAIR & BLACK, 2003, MOUROT et al., 2009).

795 Apesar de não significativo, houve diminuição da temperatura do membro
796 contralateral não testado logo após a imersão, assim como observado por Mouro
797 et al. (2009), ao realizar teste pressórico em humanos saudáveis. Isso pode ocorrer
798 como uma resposta reflexa ao estímulo local ou por mecanismos centrais
799 (NORRBRAND et al., 2017). Ao submergir uma das mãos em água a 8°C durante
800 30 minutos em 13 dias consecutivos, Mekjavic et al. (2008) verificaram efeito
801 sistêmico promovido pelo teste, uma vez que houve diminuição na resposta de
802 vasodilatação induzida pelo frio na mão testada e na contralateral. Todavia, estes
803 resultados são controversos, uma vez que Daanem et al. (2012), ao imergir mãos
804 e pés em água, não verificaram alteração da temperatura nas extremidades
805 contralaterais, e o aumento da temperatura dos dedos dos pés e diminuição da
806 temperatura dos dedos das mãos ocorreram apenas nas extremidades testadas.

807 No nosso estudo foi verificado que houve aumento significativo na
808 temperatura do membro contralateral a partir de 3 minutos após a realização do
809 teste. Lahiri et al. (2020) e Jansky et al. (2003) também verificaram lento aumento
810 da temperatura no membro não testado. Antonio-Rubio et al. (2015) também
811 verificou vasoconstrição generalizada reflexa durante a realização do teste, a partir
812 da observação da diminuição da temperatura da extremidade contralateral, além
813 de vasodilatação durante o momento de recuperação, com temperatura da
814 extremidade da mão controle alcançando $32.3 \pm 3.7^\circ\text{C}$, maior do que no momento
815 basal ($30.7 \pm 4^\circ\text{C}$). Isso pode ser explicado devido ao efeito central da estimulação
816 do SNS, a partir de variação dos parâmetros de frequência cardíaca, pressão
817 arterial e temperatura timpânica (JANSKY et al., 2003). Todavia, apesar de ter sido
818 observado aumento da temperatura do membro contralateral nos cães deste
819 estudo, o que pode ser explicado pela vasodilatação sistêmica para o
820 restabelecimento da temperatura da extremidade testada (MEKJAVIC et al., 2008),
821 não foi verificada diferença significativa nos parâmetros cardiovasculares
822 avaliados. Uma possível explicação seria a maior sensibilidade vascular, se
823 comparado com os demais parâmetros testados (BARTELINK et al., 1993b). Outros
824 mecanismos, ainda desconhecidos, também podem estar envolvidos nessa
825 resposta, sendo necessário mais investigações, incluindo mensurações de fluxo
826 sanguíneo, estudos clínicos, fisiológicos e bioquímicos (LAHIRI et al., 2020).

827 A principal diferença entre o teste de estresse ao frio e o teste pressórico ao
828 frio é a temperatura da água onde o membro é submergido. O teste pressórico ao
829 frio utiliza temperaturas extremas (1 - 5°C por 1 a 6 min) de modo a induzir dor por
830 estresse ao frio, com conseqüente estimulação do sistema nervoso simpático e
831 liberação maciça de norepinefrina, resultando em alterações no sistema
832 cardiovascular, como aumento da frequência e contratilidade cardíaca
833 (SILVERTHORN, MICHAEL, 2013). Estas temperaturas mais baixas apresentam
834 maiores significâncias diagnósticas, entretanto o sofrimento dos indivíduos é
835 severo durante a realização do teste (LASKAR, HARADA, 2005). Além disso,
836 temperaturas extremamente baixas podem levar a vasodilatação induzida pelo frio
837 e *hunting reaction*, que consistem em mecanismos de proteção contra lesões
838 (LASKAR, HARADA, 2005; FLOURIS et al., 2008). Desse modo, temperaturas mais
839 elevadas passaram a ser aceitáveis para a realização do teste (LASKAR, HARADA,
840 2005). A temperatura de 12°C e tempo de imersão de 5 minutos foram escolhidas
841 neste estudo uma vez que, nestas condições, o teste provoca vasoconstrição
842 suficiente com mínimo sofrimento (LASCAR, HARADA, 2005). Desse modo, era
843 esperado que não houvesse alteração dos parâmetros cardiovasculares testados,
844 como observado. Além disso, a temperatura e tempo de exposição também não
845 foram suficientes para alteração da temperatura central e timpânica.

846 Em alguns casos, medidas das temperaturas dos dedos podem mostrar mais
847 informações da circulação periférica do que a temperatura média das mãos
848 (DUPUIS, 1987). No presente estudo, os cães apresentaram recuperação da
849 temperatura longitudinal-distal logo após o teste, assim como as pessoas sadias na
850 pesquisa de Viana (2020). Entretanto, nas pessoas que apresentavam esclerose
851 sistêmica, a curva se manteve negativa durante todo o momento de avaliação (15
852 minutos).

853 Em relação a diferença longitudinal-distal, estudo em humanos verificaram
854 diferença significativa entre a superfície plantar e a temperatura dos dedos polegar
855 e mínimo (0.84°C nos pés e 1.44°C nas mãos), e do polegar em relação aos demais
856 dígitos (GATT et al., 2015), o que não foi observado no presente estudo, uma vez
857 que a temperatura nestes pontos foi estatisticamente igual. Além disso, Gatt et al.
858 (2015) também observaram variação de temperatura entre os dedos, com os dígitos

859 plantares 1 e 5 mais quentes que os demais, o que não foi observado nos cães.
860 Em humanos, as maiores temperaturas dos dígitos 1 e 5 da região plantar foram
861 atribuídas ao maior suprimento sanguíneo destes (Gatt et al., 2015).

862 Diferenças longitudinal-distal maiores que 1°C apresentam elevada
863 especificidade para doença vascular estrutural de base (Anderson et al., 2007).
864 Todavia, diferenças de até 3°C foram observadas em pessoas saudáveis após a
865 realização do teste de estresse ao frio, o que é atribuído a forte vasoconstrição
866 periférica nestes indivíduos (DUPUIS, 1987). No presente estudo, a maior diferença
867 de temperatura encontrada foi de 1°C.

868 Na medicina humana, o teste de estresse ao frio auxilia no diagnóstico
869 precoce de diversas doenças, como a doença de Parkinson (PURUP et al., 2020;
870 ANBALAGAN et al., 2021), síndrome de Raynaud (VIANA, 2020), neuropatia de
871 fibras finas e inflamatória (FARIA et al., 2021) e neuropatia diabética (BHARARA et
872 al., 2008; BALBINOT et al., 2012). Conhecer o padrão de temperatura e
873 reaquecimento das regiões palmares e plantares em indivíduos saudáveis fornece
874 informações clínicas importantes que não são alcançáveis por outras modalidades
875 diagnósticas e pode ser útil quando for comparado com indivíduos doentes
876 (LINDESSELL et al., 2002; GATT et al. 2015). Na medicina veterinária, não há
877 estudos que determinem qual a resposta de reaquecimento após o teste de
878 estresse ao frio em cães. A partir deste estudo, outras pesquisas poderão ser
879 realizadas em cães com suspeita de distúrbios vasculares ou autonômicos e,
880 assim, determinar a capacidade diagnóstica deste teste.

881

882 **7. CONCLUSÃO**

883 Este é o primeiro estudo de padronização do teste de estresse ao frio em
884 cães. A partir da análise dos resultados, foi verificado a temperatura inicial média
885 das extremidades testada e controle antes do teste era de $29 \pm 3.4^{\circ}\text{C}$ e $29.1 \pm 3.4^{\circ}\text{C}$,
886 respectivamente, sendo logo após o teste as temperaturas de $19.9 \pm 3.1^{\circ}\text{C}$ da
887 extremidade testada e $28.8 \pm 3.7^{\circ}\text{C}$ do controle. Após que 18 minutos a temperatura
888 da extremidade testada voltou a ser estatisticamente igual ao momento anterior ao
889 teste. Não houve diferença no padrão no padrão de reaquecimento entre machos

890 e fêmeas. Além disso, apesar de não ter sido submetida a nenhuma intervenção,
891 na extremidade não testada ocorreu aumento significativo da temperatura a partir
892 do momento 3 minutos após a realização do teste, persistindo durante os 30
893 minutos de avaliação. Não houve mudanças na frequência cardíaca, pressão
894 arterial sistólica e nas temperaturas retal e periférica em nenhum dos momentos,
895 quando comparado ao momento anterior a realização do teste. A análise do
896 gradiente térmico longitudinal revelou valores constantes ao longo de todo o
897 período de avaliação em todos os dígitos, sendo a maior diferença de temperatura
898 de 1°C

899 Com estes dados agora disponíveis é possível realizar estudos em cães com
900 disfunções autonômicas e vasculares de modo a avaliar a sensibilidade diagnóstica
901 e prognóstica deste teste.

902

903 **8. IMPACTO ECONOMICO, SOCIAL, TECNOLÓGICO E/OU** 904 **INOVAÇÃO**

905 Por meio deste estudo, fornece base para criação de um novo método para
906 diagnóstico de disfunções autonômicas e vasculares em cães com a termografia,
907 sendo um método pouco invasivo e acessível.

908

909 **9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

910 ADAIR, E.R.; BLACK, D.R. Thermoregulatory responses to RF energy absorption.
911 **Bioelectromagnetics**, v.24, n.S6, p.S17-S38, 2003.

912 ALLEN, A.P.; KENNEDY, P.J.; CRYAN, J.F.; DINAN, T.G.; CLARKE, G. Biological
913 and psychological markers of stress in humans: Focus on the Trier Social Stress
914 Test. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v.38, p.94-124, 2014.

915 ANBALAGAN, B.; ANANTHA, S.K.; ARJUNAN, S.P.; BALASUBRAMANIAN, V.;
916 MURUGESAN, M. A Non-Invasive IR Sensor Technique to Differentiate Parkinson's

917 Disease from Other Neurological Disorders Using Autonomic Dysfunction as
918 Diagnostic Criterion. **Sensors**, v.22, n.01, p.266, 2021.

919 ANDERSON, M.E.; MOORE, T.L.; LUNT, M.; HERICK, A.L. The 'distal-dorsal
920 difference': a thermographic parameter by which to differentiate between primary
921 and secondary Raynaud's phenomenon. **Rheumatology**, v.46, p.533-538, 2007.

922 ANTONIO-RUBIO, I.; MADRID-NAVARRO, C.J.; SALAZAR-LÓPEZ, E.; PÉREZ-
923 NAVARRO, M.J.; SÁEZ-ZEA, C.; GÓMEZ-MILÁN, E.; MÍNGUEZ-CASTELLANOS,
924 A.; ESCAMILLA-SEVILLA, F. Abnormal thermography in Parkinson's disease.
925 **Parkinsonism and Related Disorders**, v.21, p.852-857, 2015.

926 BALBINOT, L.F.; CANANI, L.H.; ROBINSON, C.C.; ACHAVAL, M.; ZARO, M.A.
927 Plantar thermography is useful in the early diagnosis of diabetic neuropathy.
928 **Clinics**, v.67, n.12, p.1419-1425, 2012.

929 BARTELINK, M.L.; WOLLERSHEIM, H.; JANSEN, R.W.M.M.; THEEUWES, A.;
930 THIEN, T.H. Reproducibility of the finger cooling test. **Microvascular Research**,
931 v.45, n.1, p.65-73, 1993a.

932 BARTELINK, M.L.; WOLLERSHEIM, H.; LESSMANS, E.; DE BOO, T.H.; THIEN,
933 T.H. A standardized finger cooling test for Raynaud's phenomenon: diagnostic value
934 and sex differences. **European Heart Journal**, v.14, n.5, p.614-622, 1993b.

935 BHARARA, M.; VISWANATHAN, V.; COBB, J.E. Cold immersion recovery
936 responses in the diabetic foot with neuropathy. **International Wound Journal**, v.5,
937 n.4, p.562-569, 2008.

938 BISSONETTE, B. Thermoregulation and paediatric anaesthesia. **Current Opinion**
939 **in Anesthesiology**, v. 69, p. 537-542, 1993.

940 BRÄNDSTRÖM, H.; GRIP, H.; HALLBERG, P.; GRÖNLUND, C.; ÄNGQUIST, K.A.;
941 GIESBRECHT, G.G. Hand cold recovery responses before and after 15 months of
942 military training in a cold climate. **Aviation, Space, and Environmental Medicine**,
943 v.79, n.9, p.904-908, 2008.

944 BRÄNDSTRÖM, H.; WIKLUND, U.; KARLSSON, M.; ÄNGQUIST, K.A.; GRIP, H.;
945 HANEY, M. Autonomic nerve system responses for normal and slow rewarmers
946 after hand cold provocation: effects of long-term cold climate training. **International**
947 **Archives of Occupational and Environmental Health**, v.86, n.3, p.357-365, 2013.

948 BRAZ, J.R.C. Fisiologia da termorregulação normal. **Revista Neurociências**, v.13,
949 n.3, p.12-17, 2005.

950 CAPPELLA, M.; CULPO, R.; SPROCATI, M.; MENEGHEL, A.; ZULIAN, F.;
951 MARTINI, G. Infrared Thermography After Cold Challenge: Validation in Diagnosis
952 of Raynaud' s Phenomenon in Pediatric Age. **Annals of Rheumatic Diseases**,
953 v.74, n.2, p.189, 2015.

954 CHESHIRE JR, W.P. Thermoregulatory disorders and illness related to heat and
955 cold stress. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v.196, p.91-104, 2016.

956 CHLEBICKA, I.; MATUSIAK, Ł.; MAJ, J.; BARAN, E.; SZEPIETOWSKI, J.C.
957 Freezing fingers syndrome, primary and secondary Raynaud's phenomenon:
958 characteristic features with hand thermography. **Acta Dermato-Venereologica**,
959 v.93, n.4, p.428-432, 2013.

960 CHOU Y.H.; TSAI, T.J. Autonomic dysfunction in chronic kidney disease: An old
961 problem in a new era. **Journal of the Formosan Medical Association**, v.115, p.
962 687-388, 2016.

963 CLARK, R.P.; CALCINA-GOFF, M.L. International standardization in medical
964 thermography-draft proposals. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE IEEE
965 ENGINEERING IN MEDICINE AND BIOLOGY SOCIETY, 18, Amsterdam. **Anais...**
966 Amsterdam: The Netherlands, 1996. p. 2089-2090.

967 CLEOPHAS, T.J.; FENNIS, J.F.; VAN'T LAAR, A. Finger temperature after a finger-
968 cooling test: influence of air temperature and smoking. **Journal of Applied**
969 **Physiology**, v.52, n.5, p.1167-1171, 1982.

970 DAANEN, H.A.; KOEDAM, J.; CHEUNG, S.S. Trainability of cold induced
971 vasodilatation in fingers and toes. **European Journal of Applied Physiology**,
972 v.112, n.7, p.2595-2601, 2012.

973 DEWEY, C.W. Localização da lesão; neuroanatomia funcional e não funcional. In:
974 Dewey, C.W.; Costa, R.C. (eds.). **Neurologia canina e felina: guia prático**. São
975 Paulo: Editora Guará, p.42-67, 2017.

976 DUPUIS, H. Thermographic assessment of skin temperature during a cold
977 provocation test. **Scandinavian Journal of Work, Environment & Health**, v.13,
978 n.4, p.352-355, 1987.

979 ESLER, M. The sympathetic system and hypertension. **American Journal of**
980 **Hypertension**, v.13, n.3, p.99S-105S, 2000.

981 FARIA, I.S.S.; AMARAL, R.S.; PAULA, L.V.D.; SALLES, P.V. O uso da termografia
982 como método auxiliar diagnóstico em dores orofaciais: estudo de caso. **Revista**
983 **CEFAC**, v.23, n.6, p. e9521, 2021.

984 FEALEY, R.D. Thermoregulation in neuropathies. **Handbook of Clinical**
985 **Neurology**. vol. 157, p.777-787, 2018.

986 FLOURIS, A.D.; WESTWOOD, D.A.; MEKJAVIC, I.B.; CHEUNG, S.S. Effect of
987 body temperature on cold induced vasodilation. **European Journal of Applied**
988 **Physiology**, v.104, n.3, p.491-499, 2008.

989 FREISE, H.; MEISSNER, A.; LAUER, S.; ELLGER, B.; RADKE, R.; BRUEWER, M.;
990 BRODNER, G.; VAN AKEN, H.K.; SIELENKÄMPER, A.W.; FISCHER, L.G.
991 Thoracic epidural analgesia with low concentration of bupivacaine induces thoracic
992 and lumbar sympathetic block a randomized, double-blind clinical trial.
993 **Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists**, v.
994 109, n. 6, p. 1107-1112, 2008.

995 GALVIN, E.M.; NIEHOF, S.; MEDINA, H.J.; ZIJLSTRA, F.J.; VAN BOMMEL, J.;
996 KLEIN, J.; VERBRUGGE, S.J.C. Thermographic temperature measurement
997 compared with pinprick and cold sensation in predicting the effectiveness of regional
998 blocks. **Anesthesia & Analgesia**, v. 102, n. 2, p. 598-604, 2006.

999 GATT, A.; FORMOSA, C.; CASSAR, K.; CAMILLERI, K. P.; DE RAFFAELE, C.;
1000 MIZZI, A.; AZZOPARDI, C.; MIZZI, S.; FALZON, O.; CRISTINA, S.;
1001 CHOCKALINGAM, N. Thermographic patterns of the upper and lower limbs:
1002 baseline data. *International Journal of Vascular Medicine*, v. 2015, p. 831369, 2015.

1003 GEURTS, C.L.M.; SLEIVERT, G.G.; CHEUNG, S.S. Local cold acclimation of the
1004 hand impairs thermal responses of the finger without improving hand neuromuscular
1005 function. **Acta Physiologica Scandinavica**, v.183, n.1, p.117-124, 2005.

1006 GRASSI, G.; ESLER, M. How to assess sympathetic activity in humans. **Journal of**
1007 **Hypertension**, v.17, n.6, p.719-734, 1999.

1008 GRASSI, G.; MARK, A.; ESLER, M. The sympathetic nervous system alterations in
1009 human hypertension. **Hypertension Compendium**, p.976-990, 2015.

1010 GREEN, H.D.; HOWARD, W.B.; KENAN, L.F. Autonomic control of blood flow in
1011 hind paw of the dog. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v.187, n.
1012 3, p.469-472, 1956.

1013 GRIM, K.A.; WAGNER, A.E. Sistema nervoso. In: Tranquilli, W.J.; Thurmon, J.C.;
1014 Grimm, K.A. (eds.). **Lumb & Jones Anestesiologia e Analgesia Veterinária**. São
1015 Paulo: Roca, p.171-189, 2013.

1016 GUYTON, A.C; HALL, J.E. O Sistema nervoso autônomo e a medula adrenal. In:
1017 Guyton, A.C.; Hall, J.E. (eds.). **Tratado de Fisiologia Médica**. Rio de Janeiro:
1018 Elsevier, p. 771 – 783, 2011a.

1019 GUYTON, A.C; HALL, J.E. Temperatura corporal, regulação da temperatura e
1020 febre. In: Guyton, A.C.; Hall, J.E. (eds.). **Tratado de Fisiologia Médica**. Rio
1021 Janeiro: Elsevier, p. 913-924, 2011b.

1022 HENSHAW, R.E.; UNDERWOOD, L.S.; CASEY, T.M. Peripheral thermoregulation:
1023 foot temperature in two arctic canines. **Science**, v. 175, n. 4025, p. 988-990, 1972.

1024 HORIKOSHI, M.; INOKUMA, S.; KIJIMA, Y.; KOBUNA, M.; MIURA, Y.; OKADA, R.;
1025 KOBAYASHI, S. Thermal disparity between fingers after cold-water immersion of
1026 hands: a useful indicator of disturbed peripheral circulation in Raynaud phenomenon
1027 patients. **Internal Medicine**, v.55, n.5, p.461-466, 2016.

1028 ISHITAKE, T., SATO, S., KUME, Y., NAGASE, T., SAKAKIBARA, H., TOIBANA, N.;
1029 KUROZAWA, Y.; MIYASHITA, K.; MAHBUB, H.; HARADA, N. New Standard C
1030 riteria for Cold Provocation Test With Hand Immersion for Cases of HAVS in Japan.
1031 **Canadian Acoustics**, v.39, n.2, p.30-31, 2011.

1032 IWASE, S.; CUI, J.; WALLIN, B.G.; KAMIYA, A.; MANO, T. Effects of increased
1033 ambient temperature on skin sympathetic nerve activity and core temperature in
1034 humans. **Neuroscience Letter**, v.327, p.37–40, 2002.

1035 JANSKÝ, L. Physiologic basis of human adaptation to cold. **Ceskoslovenska**
1036 **Fysiologie**, v.52, n.3, p.107-117, 2003.

1037 KELLOGG JR, D.L. In vivo mechanisms of cutaneous vasodilation and
1038 vasoconstriction in humans during thermoregulatory challenges. **Journal of**
1039 **Applied Physiology**, v.100, p.1709–1718, 2006.

1040 KERAMIDAS, M.E.; MUSIZZA, B.; KOUNALAKIS, S.N.; MEKJAVIC, I.B.
1041 Enhancement of the finger cold-induced vasodilation response with exercise
1042 training. **European Journal of Applied Physiology**, v.109, n.1, p.133–140, 2010.

1043 KHAN, F.; SPENCE, V.A.; BELCH, J.J.F. Cutaneous vascular responses and
1044 thermoregulation in relation to age. **Clinical Science**, v.82, p.521-528, 1992.

1045 KÜLS, N.; BLISSITT, K. J.; SHAW, D. J.; SCHÖFFMANN, G.; CLUTTON, R. E.
1046 Thermography as an early predictive measurement for evaluating epidural and
1047 femoral–sciatic block success in dogs. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**,
1048 v.44, n.5, p.1198-1207, 2017.

1049 LAFLAMME, D. R. P. C. Development and validation of a body condition score
1050 system for dogs. **Canine Practice**, v.22, p.10-15, 1997.

1051 LAHIRI, B.B.; BAGAVATHIAPPAN, S.; PHILIP, J. Infrared thermal imaging based
1052 study of localized cold stress induced thermoregulation in lower limbs: The role of
1053 age on the inversion time. **Journal of Thermal Biology**, v.94, n.2020, p.102781,
1054 2020.

1055 LASKAR, S.; HARADA, N. Different conditions of cold water immersion test for
1056 diagnosing hand-arm vibration syndrome. **Environmental Health and Preventive
1057 Medicine**, v.10, p.351-359, 2005.

1058 LEIJON-SUNDQVIST, K.; LEHTO, N.; JUNTTI, U.; KARP, K.; ANDERSSON, S.;
1059 TEGNER, Y. Thermal response after cold-water provocation of hands in young men.
1060 **Thermology International**, v.25, n.2, p. 48-53, 2015.

1061 LEIJON-SUNDQVIST, K.; TEGNER, Y.; OLSSON, F.; KARP, K.; LEHTO, N.
1062 Relation between dorsal and palmar hand skin temperatures during a cold stress
1063 test. **Journal of Thermal Biology**, v.66, p.87-92, 2017.

1064 LINDSELL, C.J.; GRIFFIN, M.J. Normative data for vascular and neurological tests
1065 of the hand-arm vibration syndrome. **International Archives of Occupational and
1066 Environmental Health**, v.75, n.1, p.43-54, 2002.

1067 LIVINGSTONE, S.D. Changes in cold induced vasodilation during Artic exercises.
1068 **Journal of Applied Physiology**, v.40, p.455–457, 1976.

1069 MASON, H.J.; POOLE, K.; SAXTON, J. A critique of a UK standardized test of finger
1070 rewarming after cold provocation in the diagnosis and staging of hand–arm vibration
1071 syndrome. **Occupational Medicine**, v.53, n.5, p.325-330, 2003.

1072 MCCORRY, L.K. Physiology of the autonomic nervous system. **American Journal**
1073 **of Pharmaceutical Education**, v.71, n.4, p.1-11, 2007.

1074 MEKJAVIC, I.B.; DOBNIKAR, U.; KOUNALAKIS, S.N.; MUSIZZA, B.; CHEUNG,
1075 S.S. The trainability and contralateral response of cold-induced vasodilatation in the
1076 fingers following repeated cold exposure. **European Journal of Applied**
1077 **Physiology**, v.104, n.2, p.193–199, 2008.

1078 MOLINÉ, A.; GÁLVEZ-GARCÍA, G.; FERNÁNDEZ-GÓMEZ, J.; DE LA FUENTE, J.;
1079 IBORRA, O.; TORNAY, F.; MATA MARTÍN, J.L.; PUERTOLLANO, M.; GÓMEZ
1080 MILÁN, E. The Pinocchio effect and the Cold Stress Test: Lies and thermography.
1081 **Psychophysiology**, v.54, p.1621-1631, 2017.

1082 MOUROT, L.; BOUHADDI, M.; REGNARD, J. Effects of the cold pressor test on
1083 cardiac autonomic control in normal subjects. **Physiological Research**, v.58, n.1,
1084 p.83-91, 2009.

1085 NAIDU, S.; BASKERVILLE, P.A.; GOSS, D.E.; ROBERTS, V.C. Raynaud's
1086 phenomenon and cold stress testing: a new approach. **European Journal of**
1087 **Vascular Surgery**, v.8, p.567-573, 1994.

1088 NORHEIM, A.J.; BORUD, E.; WILSGAARD, T.; DE WEERD, L.; MERCER, J. B.
1089 Variability in peripheral rewarming after cold stress among 255 healthy Norwegian
1090 army conscripts assessed by dynamic infrared thermography. **International**
1091 **Journal of Circumpolar Health**, v.77, n.1, p.1536250, 2018.

1092 NORRBRAND, L.; KÖLEGÅRD, R.; KERAMIDAS, M.E.; MEKJAVIC, I.B.; EIKEN,
1093 O. No association between hand and foot temperature responses during local cold
1094 stress and rewarming. **European Journal of Applied Physiology**, v.117, n.6,
1095 p.1141-1153, 2017.

1096 O'BRIEN, Catherine. Reproducibility of the cold-induced vasodilation response in
1097 the human finger. **Journal of Applied Physiology**, v.98, n.4, p.1334-1340, 2005.

1098 ORIMO, S.; TAKAHASHI, A.; UCHIHARA, T.; MORI, F.; KAKITA, A.;
1099 WAKABAYASHI, K.; TAKAHASHI, H. Degeneration of cardiac sympathetic nerve

1100 begins in the early disease of Parkinson's disease. **Brain Pathology**, v.17, n.1,
1101 p.24-30, 2007.

1102 PAULING, J.D.; FLOWER, V.; SHIPLEY, J.A.; HARRIS, N.D.; MCHUGH, N.J.
1103 Influence of the cold challenge on the discriminatory capacity of the digital distal-
1104 dorsal difference in the thermographic assessment of Raynaud's phenomenon.
1105 **Microvascular Research**, v.82, p.364-368, 2011.

1106 PEREGRINA-BARRETO, H.; MORALES-HERNANDEZ, L.A.; RANGEL-
1107 MAGDALENO, J.J.; AVINA-CERVANTES, J.G.; RAMIREZ-CORTES, J.M.;
1108 MORALES-CAPORAL, R. Quantitative estimation of temperature variations in
1109 plantar angiosomes: a study case for diabetic foot. **Computational and**
1110 **Mathematical Methods in Medicine**, v.2014, p.1-10, 2014.

1111 POLLOCK JR, F.E.; KOMAN, L.A.; SMITH, B.P.; HOLDEN, M.; RUSSELL, G.B.;
1112 POEHLING, G.G. Measurement of hand microvascular blood flow with isolated cold
1113 stress testing and laser Doppler fluxometry. **The Journal of Hand Surgery**, v.18,
1114 n.1, p.143-150, 1993.

1115 PRADA, I. Sistema nervosa autônomo. In; Prada, I. (ed). **Neuroanatomia**
1116 **functional em medicina veterinária**. Jaboticabal: Terra Molhada, p.217-239,
1117 2014.

1118 PURUP, M.M.; KNUDSEN, K.; KARLSSON, P.; TERKELSEN, A.J.;
1119 BORGHAMMER, P. Skin temperature in Parkinson's disease measured by infrared
1120 thermography. **Parkinson's Disease**, v.2020, p.2349469, 2020.

1121 QUINTON, P.M. Sweating and its disorders. **Annual Review of Medicine**, v.34,
1122 p.429-452, 1983.

1123 ROSA, S.A.; JARREL, L.; SOARES, G.M.; PAIXÃO, R.L. Tradução e validação de
1124 um questionário de avaliação comportamental em cães (C-BARQ) para o
1125 português. **Archives of Veterinary Science**, v.22, n1, p.10-17, 2017.

1126 SCHWABE, L.; SCHÄCHINGER, H. Ten years of research with the Socially
1127 Evaluated Cold Pressor Test: Data from the past and guidelines for the future.
1128 **Psychoneuroendocrinology**, v.92, p.155-161, 2018.

1129 SCOLNIK, M. et al. Symptoms of Raynaud's phenomenon (RP) in fibromyalgia
1130 syndrome are similar to those reported in primary RP despite differences in objective

1131 assessment of digital microvascular function and morphology. *Rheumatol. Int.*
1132 Berlin, v. 36, n. 10, p. 1371–1377, 2016.

1133 SILVERTHORN, D.U.; MICHAEL. J. Cold stress and the cold pressor test.
1134 **Advances in Physiology Education**, v..37, n.1, p.93-96, 2013.

1135 SUZUKI, Y.; KOBAYASHI, M.; KUWABARA, K.; KAWABE, M.; KIKUCHI, C.;
1136 FUKUDA, M. Skin temperature responses to cold stress in patients with severe
1137 motor and intellectual disabilities. **Brain & Development**, v.35, p.265-269, 2013.

1138 TANSEY, E.A.; JOHNSON, C.D. Recents advances in thermoregulation. **Advances**
1139 **in Physiology Education**, v.39, p. 139-148, 2015.

1140 TIKUISIS, P.; JACOBS, I.; MOROZ, D.; VALLERAND, A.L.; MARTINEAU, L.
1141 Comparison of thermoregulatory responses between men and women immersed in
1142 cold water. **Journal of Applied Physiology**, v.89, n.4, p.1403-1411, 2000.

1143 UDDIN, Z.; MACDERMID, J.; PACKHAM, T. Ice-water (cold stress) immersion
1144 testing. **Journal of Physiotherapy**, v.59, p.277, 2013.

1145 UDDIN, Z.; MACDERMID, J.; PACKHAM, T. Clinical implementation of two
1146 quantitative sensory tests: cold stress test and the ten test. **Physiotherapy Practice**
1147 **and Research**, v.35, n.1, p.33-40, 2014.

1148 VIANA, J.R.; CAMPOS, D.; ULBRICHT, L.; SATO, G.Y.; RIPKA, W.L. (2020, July).
1149 Thermography for the detection of Secondary Raynaud's Phenomenon by means
1150 of the Distal-Dorsal Distance. In: ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE OF
1151 THE IEEE ENGINEERING IN MEDICINE & BIOLOGY SOCIETY (EMBC), 42, 2020,
1152 Washington. **Anais...** Washington: IEEE, 2020, pp. 1528-1531.

1153 VOELTER-MAHLKNECHT, S.; LETZEL, S.; DUPUIS, H. Diagnostic significance of
1154 cold provocation test at 12 °C. **Environmental Health and Preventive Medicine**,
1155 v.10, n.6, p.376-379, 2005.

1156 WOOD, D.L.; SHEPS, S.G.; ELVEBACK, L.R.; SCHIRGER, A. Cold pressor test as
1157 a predictor of hypertension. **Hypertension**, v.6, n.3, p. 301-307, 1984.

1158 YOSHIDA-AMANO, Y., NOMURA, T., SUGIYAMA, Y., IWATA, K., HIGAKI, Y., &
1159 TANAHASHI, M. Dry skin conditions are related to the recovery rate of skin

1160 temperature after cold stress rather than to blood flow. **International Journal of**
1161 **Dermatology**, v.56, n.2, p.176-183, 2017.