

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA
Departamento de Producción Animal



TESIS DOCTORAL

**Utilización de la combinación de benzodiazepinas con un
inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina, y
utilización del oligoelemento litio en el tratamiento de los
trastornos de ansiedad y agresividad en perros**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Stefania Pineda González

Directores

Miguel Ibáñez Talegón
Álvaro Olivares Moreno

Madrid, 2017

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE
MADRID**

FACULTAD DE VETERINARIA



Utilización de la combinación de benzodiazepinas con un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina, y utilización del oligoelemento litio en el tratamiento de los trastornos de ansiedad y agresividad en perros.

Stefania Pineda González

Madrid, 2016



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

Utilización de la combinación de benzodiazepinas con un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina, y utilización del oligoelemento litio en el tratamiento de los trastornos de ansiedad y agresividad en perros

Facultad de Veterinaria, Departamento de Producción Animal

Memoria presentada por:

Stefania Pineda González

Para la obtención del grado de doctora en Veterinaria

Madrid, 2016

D. MIGUEL A. IBÁÑEZ TALEGÓN, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, D. ÁLVARO OLIVARES MORENO, PROFESOR CONTRATADO DOCTOR DEL DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral titulada: “Utilización de la combinación de benzodiazepinas con un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina, y utilización del oligoelemento litio en el tratamiento de los trastornos de ansiedad y agresividad en perros”, de la que es autora la licenciada en Veterinaria Doña Stefania Pineda González, ha sido realizada en el Departamento de Producción Animal, bajo la dirección conjunta de los que suscriben y cumple las condiciones exigidas para obtener el título de Doctora en Veterinaria.

VºBº Los Directores

Madrid 29 de Marzo de 2016



Fdo: D. Miguel Ibáñez Talegón



Fdo: D. Álvaro Olivares Moreno

AGRADECIMIENTOS

Quiero dar mi más sincero agradecimiento a mis directores de tesis, Dr. Miguel Ibáñez Talegón y Dr. Álvaro Olivares Moreno. Porque gracias a su apoyo, conocimientos y guía constante se ha podido desarrollar esta tesis. Gracias infinitas por la confianza, el cariño y las palabras de aliento en los momentos difíciles, más que mis directores sois mis maestros. Y gracias nuevamente por haberme transmitido vuestra increíble vocación investigadora y el cariño y amor hacia el bienestar y el comportamiento de los animales.

A la Universidad Complutense de Madrid, mi segundo hogar durante todos estos años. Porque más allá de los conocimientos que me llevo, siempre me sentiré orgullosa de haber podido trabajar y compartir con personas de tan excelente recorrido académico.

Al departamento de Producción Animal y todos sus docentes por abrirme las puertas y sobre todo por su ayuda y colaboración constante. Quiero agradecer a todos los residentes y alumnos internos que han pasado a lo largo de estos años por el Centro de Medicina del Comportamiento Animal, por haber hecho que día a día todo fuera más fácil y ameno, especialmente a Natalia Aira y a João Pedro Monteiro, porque sin vuestra ayuda, todo hubiera sido más complicado. Gracias infinitas a la veterinaria Susana Morillas, porque con su amor y consejos supo ayudarme a ver la luz que necesité durante todo este proceso.

A los clientes y pacientes caninos y felinos del Centro del Comportamiento Animal, porque gracias a ellos, cada día descubro más mi labor en este mundo.

A mis padres, mi hermana y mi familia, por ser mi motor cada día y por enseñarme que los sueños con esfuerzo siempre se cumplen. Nunca olvidaré vuestras palabras: "cuando haces lo que verdaderamente amas, la vida siempre trae su recompensa".

A mi marido, Miguel Crespo, quien con su amor incondicional y verdadero, supo levantarme de los momentos difíciles y supo también sonreír a mi lado cuando se presentaron todas y cada una de las alegrías vividas. Sin el amor de nuestro hogar todo este proceso solo se hubiera quedado en expectativas.

Finalmente quiero darle gracias a mi Padre Dios, porque sin él mis sueños no hubieran podido cumplirse, porque todo lo que soy y lo que tengo se lo debo a él.

RESUMEN / SUMMARY	I
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. EL ESTRÉS COMO FACTOR DESENCADENANTE DE CONDUCTAS ANORMALES EN EL PERRO	7
2.1.1. <i>Introducción</i>	7
2.1.2. <i>Neurofisiología del estrés</i>	7
2.1.3 <i>Categorización de los estímulos estresantes</i>	9
2.2 TRASTORNOS DEL COMPORTAMIENTO EN EL PERRO	10
2.2.1. <i>Epidemiología de los trastornos de comportamiento</i>	11
2.2.2. <i>Factores que influyen en la presentación de problemas de ansiedad y agresividad en perros</i>	12
2.2.3. <i>Diagnóstico de los problemas conductuales en el perro</i>	13
2.3. PRINCIPALES TRASTORNOS DEL COMPORTAMIENTO EN EL PERRO.....	15
2.3.1 <i>Ansiedad</i>	15
2.3.1.1. Generalidades.....	15
2.3.1.2. Factores que determinan la presentación de conductas ansiosas	18
2.3.1.2.1. Factores genéticos	18
2.3.1.2.2. Factores hormonales.....	18
2.3.1.2.3. Factores ambientales	19
2.3.2. <i>Tipos de ansiedad en el perro</i>	20
2.3.2.1. Ansiedad por separación	20
2.3.2.2. Ansiedad generalizada.....	21
2.3.2.3. Trastornos compulsivos.....	21
2.3.2.4. Estados fóbicos.....	22
2.3.3. <i>Agresividad</i>	23
2.3.3.1. Generalidades.....	23
2.3.3.2. Factores que determinan la presentación de conductas agresivas	25
2.3.3.2.1. Factores orgánicos	25

2.3.3.2.2. Factores Genéticos.....	26
2.3.3.2.3. Factores ambientales	28
2.3.3.2.4. Factores Hormonales	29
2.3.3.2.4.1. Serotonina	29
2.3.3.2.4.2. Testosterona.....	30
2.3.3.3. Tipos de agresividad en el perro.....	30
2.4. TRATAMIENTO GENERAL DE LOS PROBLEMAS DE ANSIEDAD Y AGRESIVIDAD EN EL PERRO	31
2.4.1. Generalidades.....	31
2.4.2. Técnicas de modificación de conducta.....	32
2.4.2.1. Principales técnicas de modificación de conducta utilizadas para el tratamiento de la ansiedad en perros.....	33
2.4.2.2. Principales técnicas de modificación de conducta utilizadas para el tratamiento de la agresividad en perros	35
2.4.3. Tratamiento farmacológico.....	37
2.4.3.1. Clasificación de agentes psicotrópicos.....	40
2.4.3.2. Utilización de las benzodiazepinas en el tratamiento de problemas conductuales	41
2.4.3.2.1. Generalidades	42
2.4.3.2.2. Mecanismo de acción	42
2.4.3.2.3. Farmacocinética.....	43
2.4.3.2.4. Acciones terapéuticas	44
2.4.3.2.5. Riesgos de administración.....	48
2.4.3.2.5.1. Efectos psicológicos	48
2.4.3.2.5.2. Efectos Cognitivos.....	49
2.4.3.2.5.3. Efectos psicomotores	49
2.4.3.3. Utilización del clorazepato dipotásico en el tratamiento de problemas conductuales	51
2.4.3.3.1. Farmacocinética.....	51
2.4.3.3.2. Efectos en animales	52
2.4.3.3.3. Precauciones y efectos secundarios	52
2.4.3.4. Utilización del alprazolam en el tratamiento de problemas conductuales.....	53

2.4.3.4.1. Farmacocinética.....	54
2.4.3.4.2. Efectos en animales	54
2.4.3.4.3. Precauciones y efectos secundarios	55
2.4.3.5. Utilización de inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina para el tratamiento de problemas conductuales	56
2.4.3.5.1. Mecanismo de acción	57
2.4.3.5.2. Efectos colaterales	58
2.4.3.5.3. Clorhidrato de Fluoxetina.....	59
2.4.3.5.3.1. Farmacocinética.....	59
2.4.3.5.3.2. Efectos en animales	60
2.4.3.5.3.3. Precauciones y efectos secundarios	61
2.4.4. <i>Uso de terapias complementarias en los trastornos de ansiedad y agresividad.</i> <i>Oligoelementos.....</i>	62
2.4.4.1. Generalidades.....	62
2.4.4.2. Efectos secundarios y contraindicaciones	65
2.4.4.3. Oligoterapia.....	66
2.4.4.3.1. Formas de presentación y vías de administración	67
2.4.4.3.2. Litio	68
2.5. BIBLIOGRAFÍA	71
3. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS.....	95
4. MATERIALES Y METODOS.....	99
4.1. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN 1	101
4.1.1. <i>Tratamiento farmacológico.....</i>	103
4.1.2. <i>Plan de modificación de conducta.....</i>	103
4.1.3. <i>Evaluación en la mejoría de los signos.....</i>	103
4.1.4. <i>Análisis Estadístico.....</i>	104
4.2. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN 2	104
4.2.1. <i>Tratamiento Farmacológico y plan de modificación de conducta.....</i>	106
4.2.2. <i>Evaluación en la mejoría de los signos.....</i>	106

4.2.3. Análisis Estadístico.....	106
4.3. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN 3	107
4.3.1. Tratamiento farmacológico y plan de modificación de conducta.....	108
4.3.2. Evaluación en la mejoría de los signos.....	109
4.3.3. Análisis Estadístico.....	109
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	111
5.1. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN 1	113
5.1.1. Resultados.....	113
5.1.2. Discusión	115
5.2. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN 2	118
5.2.1. Resultados.....	118
5.2.2. Discusión	120
5.3. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN 3	122
5.3.1. Resultados.....	122
5.3.2. Discusión	124
5.4. BIBLIOGRAFÍA. TRABAJOS EXPERIMENTALES.....	129
6. DISCUSIÓN GENERAL	135
7. CONCLUSIONES	149
8. RESUMEN AMPLIADO / EXTENDED SUMMARY.....	153
9. ANEXOS	187

Índice de tablas y figuras

Tabla 1. Patologías asociadas al desarrollo de conductas agresivas.....	26
Tabla 2. Tipos de agresividad definidos por Moyer (1968) y modificados por diferentes autores.	31
Tabla 3. Clasificación de psicótopos de interés clínico.	40
Tabla 4. Agentes farmacológicos más usados en etología clínica.....	41
Tabla 5. Benzodiazepinas más comunes, usadas en perros y gatos.....	42
Tabla 6. Clasificación de los oligoelementos.....	63
Tabla 7. Posibles combinaciones de los oligoelementos.....	68
Tabla 8. Detalles clínicos de treinta y seis perros tratados por estados de ansiedad.	102
Tabla 9. Detalles clínicos de treinta y cinco perros tratados por estados de ansiedad.....	105
Tabla 10. Número de animales distribuidos por desorden de ansiedad, sexo, edad y estado reproductivo en función del grupo de tratamiento (T1, T2 y TC).....	108
Tabla 11. Comparación de los efectos del tratamiento sobre los signos de ansiedad, edad, sexo y estado reproductivo de los grupos estudiados, en cada período. Diferencia entre los períodos y cumplimiento del cliente.....	114
Tabla 12. Respuestas clínicas según categoría diagnóstica en perros tratados con fluoxetina, clorazepato y terapia de modificación de conducta.....	114
Tabla 13. Respuesta clínica según tipo de desorden en los perros tratados con fluoxetina, clorazepato, y terapia de modificación de conducta.....	115
Tabla 14. Prueba de Spearman, correlación entre las mejorías encontradas y el cumplimiento del propietario.	115
Tabla 15. Comparación de los efectos del tratamiento sobre los signos de ansiedad, edad, sexo y estado reproductivo de los grupos estudiados, en cada período. Diferencia entre los períodos y cumplimiento del cliente.....	119
Tabla 16. Respuestas clínicas según categoría de comportamiento, en perros tratados con fluoxetina, alprazolam y un plan de modificación de conducta.	120
Tabla 17. Coeficientes de correlación de Spearman, entre las mejorías encontradas y el cumplimiento y la conformidad del propietario.....	120
Tabla 18. Diferencias entre las mejorías obtenidas, según los tratamientos utilizados, teniendo en cuenta edad, sexo y estado reproductivo.....	123
Tabla 19. Diferencia entre los tratamientos aplicados (T1, T2, TC) por categoría diagnóstica y las mejorías encontradas en los tres períodos estudiados.	123
Tabla 20. Porcentaje de las mejorías encontradas en los grupos de tratamiento (T1, T2 y TC) en función de las categorías diagnósticas (Agg y Nagg).....	124

Tabla 21. Diferencia entre los tratamientos aplicados (T1, T2, TC) por categoría diagnóstica y las mejoras encontradas en los tres períodos estudiados.	143
Tabla 22. Comparación de los efectos de los tratamientos durante los períodos 1, 2 y 3 (día 14, 42 y 70) sobre las conductas ansiosas acompañadas o no de signos de agresividad en perros. Diferencia entre los tres períodos de tratamiento.....	144
Figura 1. Sistemas, áreas cerebrales y hormonales implicadas en la respuesta de estrés de la rata.....	9
Figura 2. Rango de dosis-respuesta de un elemento esencial (Se y Fe).....	65

Principales abreviaturas utilizadas

SN: Sistema nervioso

SNC: Sistema nervioso central

HPA: Eje hipotalámico-pituitario-adrenal

SNS: Sistema nervioso simpático

SNA: Sistema nervioso autónomo

ACTH: Hormona adenocorticotrópica

CRF: Factor de liberación de corticotropinas

GC: Glucocorticoide

HCT: Hormona liberadora de corticotropinas

CORT: Corticosterona

CRH: Hormona liberadora de corticotropina

HIPP: Hipocampo

HYP: Hipotálamo

LC: Locus coeruleus

NA: Noradrenalina

CPF: Córtex prefrontal

NPV: Núcleo paraventricular

NAM: Núcleo amigdalino

REM: Movimientos oculares rápidos

TAG: Trastorno de ansiedad generalizada

TOC: Trastorno obsesivo compulsivo

TC: Trastornos compulsivos

5-HT: 5- hidroxitriptamina

PFC: Corteza prefrontal

GABA: ácido -aminobutírico

ISRS: Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina

ATC: Antidepresivos tricíclicos

ALT: Alanina transaminasa

LD₅₀: Dosis letal 50

IMAO: Inhibidores de la monoaminooxidasa

Co: Cobalto

Cr: Cromo

Cu: Cobre

Mn: Manganeseo

Mo: Molibdeno

F: Flúor

Ni: Níquel

Se: Selenio

I: Yodo

Zn: Zinc

Ar: Argón

B: Boro

Br: Bromo

Li: Litio

Sn: Estaño

V: Vanadio

Al: aluminio

Be: Berilio

Cd: Cadmio

Hg: Mercurio

Nb: Niobio

Pb: Plomo

Re: Renio

Te: Teluro

Ti: Titanio

Tl: Talio

U: Uranio

W: Volframio

Ag: Plata

Bi: Bismuto

Mg: Magnesio

P: Fosforo

K: Potasio

S: Azufre

Au: Oro

Fe: Hierro

IP3: Inositol-trifosfato

DAG: Diacilglicerol

c-AMP: Adenosín monofosfato cíclico

ATP: Adenosintrifosfato

AS: Ansiedad por separación

EI: Eliminación inapropiada

AGG: Agresividad

AG: Ansiedad generalizada

M: Macho

H: Hembra

DC: Desorden compulsivo

FR: Fobia a ruidos

NAgresivo: perro ansioso sin agresividad

E: Empeoraron

SC: Sin cambios

LM: Ligera mejoría

MM: Mejoría moderada

GM: gran mejoría

AGGd: Agresividad por dominancia

AGGj: Agresividad por juego

AGGm: Agresividad por miedo

AGGp: Agresividad entre perros

AGGc: Agresividad relacionada con la comida

AGGT: Total de agresivos

h: Horas

MR: Miedo a ruidos

MP: Miedo a perros

NAgresivo: perro ansioso con agresividad

DA: Desorden de ansiedad

Sex: sexo

Ed: edad

ER: Estado reproductivo

Agg: perros ansiosos con agresividad

Nagg: perros ansiosos sin agresividad

J: jóvenes

A: adultos

Ent: enteros

Cast: Castrados

C: categoría

T1: Tratamiento con litio

T2: Tratamiento con alprazolam-fluoxetina

TC: Control

PMC: Plan de modificación de conducta

D1: Diferencias entre períodos 2 y 1

D2: Diferencias entre períodos 3 y 2

D3: Diferencia entre períodos 3 y 1

Cump: Cumplimiento del propietario

P: p valor

ME: Mejorías encontradas

UCM: Universidad Complutense de Madrid

¹ Este breve resumen es parte del cuerpo de la Tesis. El resumen ampliado se presenta al final del manuscrito, en cumplimiento de las directrices de la normativa de desarrollo del Real Decreto 99/2011, de 28 de enero, que regula los estudios de doctorado en la Universidad Complutense de Madrid (UCM) (BOUC no 14, de 21 de diciembre de 2012) y de acuerdo con las especificaciones establecidas por la Comisión de Doctorado de la UCM.

This short abstract is part of the main Thesis report. The extended abstract is included, at the end of the manuscript, in fulfilment of the directives of the regulation of development of the Real Decreto 99/2011, de 28 de enero, which regulates the studies of doctorate at the Universidad Complutense de Madrid (UCM) (BOUC no14, de 21 de diciembre de 2012) and in agreement with the specifications established by the Commission of Doctorate of the UCM.

La presente Tesis Doctoral estudió qué benzodiacepina (clorazepato, alprazolam) unida a fluoxetina y a un plan de modificación de conducta, se comporta mejor en los trastornos de ansiedad y agresividad en perros. Además el estudio buscó comparar una terapia farmacológica convencional con una terapia con el oligoelemento litio, para saber qué terapia se comporta mejor en los problemas de ansiedad y agresividad en perros.

Se desarrollaron 3 trabajos de investigación. Todos los animales llegaron a la consulta reportando signos de ansiedad y se dividieron en 2 categorías diagnósticas según los signos presentados.

En el primer trabajo, 36 perros recibieron un tratamiento farmacológico con clorazepato a dosis de 1.0 mg/kg cada 24h por 4 semanas, en conjunto con fluoxetina, administrada a dosis de 1.0mg/kg cada 24h por 10 semanas. Junto al tratamiento farmacológico los dueños siguieron un plan de modificación de conducta. En el trabajo de investigación 2, 35 perros recibieron el mismo tratamiento que los animales del experimento 1, con la excepción de que el clorazepato fue sustituido por alprazolam a dosis de 0.07 mg/kg cada 24h durante 4 semanas. En el trabajo de investigación 3, los perros se dividieron en 3 grupos, de 45 perros cada uno. El primero recibió 1 ampolla de 2ml con gluconato de litio 3 veces/día durante 10 semanas, el segundo grupo recibió una combinación farmacológica de alprazolam-fluoxetina, a dosis de 0.07 mg/kg cada 24h durante 4 semanas y 1.0 mg/kg cada 24h durante 10 semanas, respectivamente. El tercer grupo solo recibió un plan de modificación de conducta durante las 10 semanas de tratamiento.

Se evaluaron las mejorías de los signos de ansiedad en los animales durante los días 14, 42 y 70. Los resultados obtenidos no tuvieron una distribución normal y fueron analizados mediante pruebas no paramétricas. Ninguno de los estudios mostró diferencias significativas en cuanto a la edad, sexo y estado reproductivo de los animales.

En el trabajo de investigación 1, los perros ansiosos con agresividad mostraron mejorías más significativas en sus signos que los perros ansiosos sin agresividad al finalizar el día 70 de tratamiento ($P=0.04$). Se observaron diferencias significativas ($P<0.05$) en las mejorías de los signos entre los períodos 2 y 1 y entre los períodos 3 y 1. El trabajo de investigación 2, mostró diferencias significativas ($P<0.02$), durante el período D3 de

tratamiento para ambas categorías diagnósticas, aunque los períodos D1 y D2 no presentaron diferencias significativas. En el trabajo de investigación 3, no encontramos diferencias significativas ($P > 0.05$) en la mejoría de los signos, en función del tratamiento utilizado, en los diferentes períodos de tratamiento. Sin embargo, diferencias significativas ($P = 0.04$) existieron en la diferencia entre los períodos 3 y 2 y en la diferencia entre los períodos 3 y 1, al utilizar gluconato de litio.

En el primer trabajo un 13% de los perros mostró grandes mejorías o resolución clínica, el 25% mostró mejorías moderadas y el 30.60% tuvo ligeras mejorías. Por otro lado, existió una correlación significativa ($P < 0.0001$) entre el cumplimiento y la satisfacción del propietario, y la mejoría de los signos durante los períodos 2 y 3 de tratamiento. Para el trabajo 2, el 37.14% de los perros tuvieron una mejoría grande o moderada, y el 40% consiguieron una ligera mejoría. Por lo tanto, al final de la terapia (D3), el 77.14% de los perros mostraron algún tipo de mejoría en los signos reportados durante la consulta de comportamiento. Once de los 15 perros ansiosos con agresividad (73.33%) mostraron mejorías y 16 de los 20 perros ansiosos sin agresividad mostraron mejorías en un 80%. Existió una correlación positiva entre el cumplimiento y la conformidad de los propietarios con la mejoría de los signos de ansiedad y los valores obtenidos en cada período de seguimiento.

Finalmente, en el trabajo de investigación tres se observó que los tres tratamientos reportaron alguna clase de mejoría y no se observaron empeoramientos. No obstante el tratamiento con el oligoelemento litio presentó un buen comportamiento en la categoría de perros ansiosos con signos agresivos, mientras que el tratamiento farmacológico convencional se comportó mejor en la categoría de perros ansiosos sin agresividad. La correlación entre la satisfacción del propietario con la mejoría encontrada en los signos clínicos únicamente fue significativa para el tratamiento T1, lo que podría indicar, una mejor disposición por parte de los propietarios para realizar el plan de tratamiento cuando se suministra un oligoelemento como el litio.

In this doctoral thesis we studied which benzodiazepine (clorazepate, alprazolam) combined with fluoxetine and a behavior modification therapy, worked better in anxiety disorders with or without aggressive signs in dogs. The study also seeks to compare conventional pharmacological therapy, with a complementary therapy with lithium trace element, to know which one performs better on anxiety and aggressive problems in dogs. Finally.

We developed three research study. All animals arrived to the animal behavior clinic showing signs of anxiety and were divided into two diagnostic categories according to the signs shown.

In research study 1, 36 dogs received Clorazepato drug treatment in doses of 1.0 mg / kg every 24 h for 4 weeks, in conjunction with fluoxetine, administered in doses of 1.0mg / kg every 24 hours for 10 weeks. Also along with drug therapy owners followed a behavior modification plan since the beginning of the treatment. In research study 2, the dogs received alprazolam drug treatment in doses of 0.07 mg / kg every 24 hours for 4 weeks, combined with fluoxetine, administered in doses of 1.0 mg / kg every 24 hours for 10 weeks. As in research 1, the owners started the behavioral modification plan on their dogs the same day that pharmacological therapy started. For the last study, 53 dogs were classified and studied in the category of anxious dogs with aggression and 82 dogs were classified and studied in the category of anxious dogs without aggression. Subsequently, the studied dogs were divided into 3 groups of 45 dogs each and were given treatment. The first group received 1 blister of 2ml with lithium gluconate (T1) three times a day for 10 weeks, the second group received a drug combination with fluoxetine-alprazolam (T2) at a dose of 0.07 mg / kg every 24 hours for 4 weeks and 1.0 mg / kg every 24 hours for 10 weeks, respectively. The third group only received behavior modification plan (TC) during the 10 weeks of treatment.

The improvement of all animals in the three studies was evaluated in days 14, 42 and 70. The results of the three studies didn't follow a normal distribution, they were analyzed using nonparametric tests. There were no significant differences between age and sex of the animals.

In research study 1, anxious aggressive dogs showed more significant improvements than anxious dogs without aggression at the end of day 70 of treatment ($P=0.04$). Equally significant differences were observed ($P<0.05$) in the improvements between periods 2 and 1 and between periods 3 and 1. Research work 2 shows significant differences ($P <0.02$) during the treatment period D3 for both diagnostic categories, although periods D1 and D2 were not significantly different. In research work 3, no significant differences were found ($P>0.05$) in the improvement signs, depending on the treatment used in the different treatment periods. However, significant differences ($P=0.04$) existed in the difference between periods 3 and 2 and the differences between periods 3 and, using lithium gluconate.

In research 1, 13% of the dogs showed large improvement or clinical resolution, 25% of the dogs showed moderate improvement and 30.6% had slight improvement. There exists a significant correlation ($P<0.0001$) between compliance and owner satisfaction and improvement signs during periods 2 and 3 of treatment. For research 2, 13 dogs (37.14%) had a large or moderate improvement, and 14 dogs (40%) achieved a slight improvement. Therefore, at the end of therapy (D3), 77.14% of the dogs showed some signs of improvement in the reported behavior during consultation. However, 8 dogs (22.86%) had no change, and it is noteworthy that no animal worsened. In addition, eleven of the 15 anxious dogs with aggression (73.33%) showed improvement, and 16 of the 20 anxious dogs without aggression showed improvement (80%). There was a positive correlation between compliance and satisfaction of the owners with the treatment, and the obtained values for the improvement found in each monitoring period.

Finally, research work 3 showed that the three treatments had some signs of improvement in all the cases and none worsened. The treatment with lithium trace element showed a good performance in the category of anxious dogs with aggressive signs. While conventional drug treatment had better results in the category of anxious dogs without aggression. The correlation between owner satisfaction and improved clinical signs only occurred when treatment 1 was used, which could indicate a greater willingness of the owners to follow the treatment plan when a trace element such as lithium is supplied.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Los trastornos del comportamiento son comunes en el perro doméstico. Se ha estimado que hasta el 90% de los perros pueden exhibir en algún momento de su vida, comportamientos que sus propietarios encuentran inaceptables (Vacalopoulos y Anderson, 1993). Dichos problemas pueden ser fuente de angustia para el propietario y algunas veces la única solución para ellos es entregar el cuidado del animal a un refugio (Salman *et al.*, 1998). Los trastornos del comportamiento se encuentran entre los más complejos e incapacitantes de todas las condiciones patológicas (Overall, 2000). Tal es así que son la primera causa de abandono y muerte de los animales de compañía, por delante de las enfermedades infecciosas y metabólicas, lo que acarrea pérdidas económicas en los ingresos anuales por servicios veterinarios (Sigler, 1991).

Los problemas de comportamiento en las mascotas en su mayoría son caracterizados y comprendidos en relación con el contexto ambiental humano en el cual se desarrollan. Los dueños establecen un vínculo estrecho con su perro y tienden a antropomorfizar sus conductas, similar a como lo hacen con los niños. La mayoría de las veces el problema de por sí no es la conducta del animal, sino más bien cómo ésta, afecta a su propietario (Askew, 1996). Así, algunos dueños no saben cómo mantener la conducta bajo control, pudiendo incluso empeorar el problema recompensando la conducta problemática, empleando caricias, recompensas alimenticias y/o juguetes (Askew, 2005).

El proceso de domesticación y la relación con el humano ha inducido a cambios significativos en el comportamiento ontogénico, social, y sexual, de los animales pudiendo llegar a alterar en algunos casos su capacidad de adaptación, causando estrés en el animal, problemas de salud y finalmente conductas atípicas. Esta selección artificial, ha traído consecuencias para la conducta alimenticia, reproductiva, predatoria, social, eliminativa y de juego, pues la ausencia de ciertos estímulos "clave" en el ambiente físico de los animales en cautiverio, puede resultar en un fracaso para expresar comportamientos normales para su especie (Price, 1999).

En el tratamiento de los trastornos de ansiedad en perros, los procedimientos de modificación de la conducta constituyen la herramienta más importante para resolver las situaciones que crean conflicto en el animal. Las técnicas de condicionamiento usadas, están dirigidas a eliminar los miedos aprendidos o innatos y la presencia de ansiedad no deseada (Hart, *et al.*, 2009). Sin embargo, autores como Simpson *et al* (2007) han demostrado la eficacia en el tratamiento de los trastornos relacionados con ansiedad en perros, al combinar

agentes ansiolíticos, técnicas de modificación de conducta y planes de enriquecimiento ambiental.

La utilización de agentes farmacológicos permite al animal aumentar la habilidad para responder positivamente en la terapia de modificación de conducta y además son una herramienta facilitadora para el desarrollo de los programas de obediencia (Simpson *et al.*, 2007), la cual finalmente le permitirá al animal adaptar su conducta a la situación ambiental existente (Hart *et al.*, 2009). Los psicofármacos se utilizan con el fin de compensar el desequilibrio en las sustancias químicas del sistema nervioso central (Ibáñez y Ánzola, 2009). El uso selectivo de psicotrópicos puede ayudar a resolver algunos problemas de comportamiento que, por una u otra razón, pueden no responder a las modificaciones de conducta y del ambiente como únicas herramientas de manejo (Hart y Cooper, 1996). Por otro lado, son útiles cuando los propietarios no son capaces de seguir un plan completo para modificar la conducta o cuando el problema, necesita ser controlado en un breve período de tiempo (Hart *et al.*, 2009). Los psicofármacos consiguen modificar la capacidad de respuesta del animal para enfrentarse con éxito a estímulos externos, ayudando a que la homeostasis con su medio mejore, lo cual permite reducir los niveles de ansiedad (Ibáñez y Ánzola, 2009).

Los ansiolíticos incluyen las benzodiazepinas, los barbitúricos, los antihistamínicos, así como también algunos antidepresivos que han sido usados para tratar algunos estados de ansiedad. Últimamente, la medicina veterinaria ha ampliado su campo de actuación en los problemas de comportamiento y los especialistas que trabajan en el campo de la conducta animal han incorporado cada vez más sustancias empleadas en el tratamiento de la conducta humana para su uso en los animales domésticos (Overall, 1997; Ibáñez y Ánzola, 2009). En estudios realizados por Crowell-Davis *et al* (2003) se emplearon benzodiazepinas en combinación con antidepresivos, con el propósito de que la benzodiazepina por su acción inmediata, controlara la ansiedad en el paciente, mientras que el antidepresivo alcanza los niveles necesarios para que ejerza su efecto ansiolítico. Los resultados obtenidos permitieron que los animales tuvieran mejor respuesta al plan de modificación de conducta propuesto, disminuyeran los signos de ansiedad y sus propietarios se mostraron más conformes y motivados con la terapia.

La principal ventaja clínica de las benzodiazepinas como ansiolíticos es la inmediatez de su respuesta, aunque es fundamental conocer los posibles efectos sedativos que algunas veces pueden interferir con la terapia (Hurlé *et al.*, 2008). Los animales deben tratarse por un período de tiempo determinado, y relativamente corto, debido a sus efectos adversos (Stahl, 2009). Es por ello, que en tratamientos prolongados, es preferible emplear los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), los cuales permiten disminuir las conductas ansiosas, y carecen en menor medida de los efectos adversos de las benzodiazepinas (Mondragón *et al.*, 2010). Sin embargo, la mayor parte de los antidepresivos tardan de 4 a 5 semanas en alcanzar su efecto terapéutico (Dodman y Shuster, 2000).

En los últimos años en el campo de los trastornos de ansiedad, ha cobrado especial importancia el uso de oligoelementos "elemento traza", cuyo objetivo principal es prevenir y compensar algún déficit en el organismo, y permitirle a éste facilitar el efecto terapéutico (Berthélémy, 2008a). La mayor parte de los oligoelementos actúan como cofactores regulando las concentraciones de varios neurotransmisores y aminoácidos que participan en los procesos orgánicos (Pombo *et al.*, 2001), actúan como catalizadores, y segundos mensajeros, además de ser cofactores de las enzimas, pudiendo dar lugar, su deficiencia o exceso a un mal funcionamiento del sistema nervioso central (SNC) (Popescu *et al.*, 2007). Oligoelementos tales como el litio, participan en el metabolismo y flujo de iones transmembrana, lo que conlleva a facilitar y regular la transmisión nerviosa (Berthélémy, 2008). Cuando el litio es utilizado en dosis micromolares bajas resulta ser eficaz para la salud mental (Zarse *et al.*, 2011) y es por ello que el gluconato de litio es el agente más utilizado en oligoterapia para tratar los problemas de hiperansiedad e hiperexcitación (Picard, 1985), además de que se ha mostrado eficaz en el tratamiento de pacientes refractarios a las terapias antidepresivas convencionales (Martin *et al.*, 1995).

Por lo anteriormente citado la presente tesis doctoral, ha sido realizada con la finalidad de conocer qué tipo de benzodiazepina (Alprazolam o clorazepato dipotásico) se comporta mejor al ser combinada con un antidepresivo (fluoxetina) y un plan de modificación de conducta en el tratamiento de los trastornos de ansiedad en perros. Además, esta tesis busca comparar el uso de una terapia farmacológica convencional ansiolítica con una terapia complementaria (oligoterapia) utilizando gluconato de litio, con el objetivo de conocer qué tipo de tratamiento ofrece mejores resultados en los trastornos de ansiedad acompañados o

no de signos de agresividad en perros. Finalmente, esta investigación pretende conocer de qué forma las mejorías en los signos de ansiedad obtenidas con los tratamientos propuestos, hacen que se incremente la satisfacción y cumplimiento de la terapia propuesta por parte del propietario.

CAPÍTULO 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. El estrés como factor desencadenante de conductas anormales en el perro

2.1.1. Introducción

En diferentes especies, un estrés fisiológico se produce como respuesta a estímulos que producen temor o ansiedad. Se cree que estas respuestas de estrés podrían tener efectos tanto a corto como a largo plazo en la salud y la esperanza de vida (McEwen, 2005), pues una sola respuesta de estrés agudo puede conducir a cambios neuroquímicos a largo plazo (Koolhaus *et al.*, 1997).

Se cree que los diferentes factores de estrés activan las partes del sistema de respuesta a ese mismo estrés causado y se espera que al haber una respuesta de corta duración, el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) active específicamente el sistema nervioso simpático (SNS) y haya menor efecto en la salud y el bienestar del individuo (Stroud *et al.*, 2002). Sin embargo, los factores estresantes por largos períodos de tiempo podrían tener efectos perjudiciales (Dreschel, 2010), pues el estrés emocional y/o físico se asocia con mayor estrés oxidativo, menor actividad de la telomerasa y menor longitud de los telómeros, lo que a su vez conduce a muerte celular y envejecimiento (Epel *et al.*, 2004). Por otro lado, el estrés está relacionado con el envejecimiento acelerado de las células a nivel molecular, lo que probablemente puede aumentar la velocidad a la que el organismo sucumbe a la enfermedad natural, pudiendo así dar lugar a la introducción de nuevos procesos patológicos (Epel *et al.*, 2004). Es por ello que los trastornos de miedo y ansiedad, pueden alterar sistemas comunes como el sistema inmunológico, hormonal y nervioso, al existir períodos de estrés prolongados (Dreschel, 2010).

2.1.2. Neurofisiología del estrés

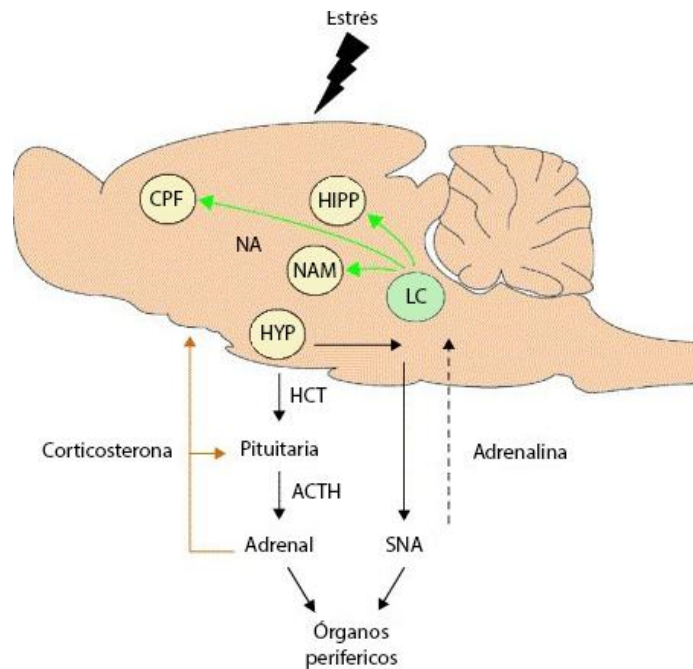
El bienestar animal es cada vez más importante y la ausencia de estrés crónico es uno de sus requisitos previos. Diversas respuestas endocrinas están involucradas, cuando existe un proceso estresante, pues se desarrolla una respuesta estereotipada, mediada primariamente por la activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, donde también interviene el sistema nervioso autónomo (SNA). Dichos sistemas funcionan para restablecer el estado de equilibrio, interviniendo en la puesta en marcha de respuestas conocidas como respuestas adaptativas (Seyle, 1956).

Gracias al conocimiento sobre los procesos metabólicos, inmunológicos y neuroendocrinos es posible describir fisiológicamente los procesos estresantes (Balm, 1999). Una multitud de hormonas (por ejemplo, ACTH (hormona adenocorticotropica), glucocorticoides, catecolaminas, prolactina) están implicadas en la respuesta de estrés (Matteri *et al.*, 2000). Las glándulas suprarrenales tienen un papel clave en las reacciones hormonales gracias a su importante participación en el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y en el sistema simpato-adrenomodular (Moberg, 2000). Las situaciones adversas desencadenan la respuesta de estas glándulas suprarrenales, lo que se traduce en un aumento de glucocorticoides y secreción de catecolaminas (Möstl y Palme, 2002).

Fisiológicamente para describir de manera esquemática el funcionamiento del eje HPA puede decirse que el hipotálamo induce a la hipófisis anterior o adenohipófisis a través del CRF (factor de liberación de corticotropinas) a secretar la hormona adenocorticotropica (ACTH), a su vez se estimula la corteza adrenal y se produce cortisol o glucocorticoide (GC), (Fig 1). Igualmente, la adrenalina y la noradrenalina (catecolaminas) son también capaces de estimular la secreción de ACTH, mostrando así la complejidad en estos sistemas (McDermott *et al.*, 2012).

El estrés no en todos los casos es inherentemente malo (Moberg, 2000), pues durante cortos períodos de tiempo, los glucocorticoides liberados permiten la movilización de energía y pueden ayudar a cambiar el comportamiento (Korte *et al.*, 1993). El problema se presenta con el estrés crónico severo (períodos prolongados de altas concentraciones de cortisol) el cual puede disminuir la capacidad del individuo originando inmunosupresión y atrofia en los tejidos (Munck *et al.*, 1984), lo que puede conllevar a que el éxito reproductor del animal disminuya (Dobson y Smith, 1995). El estrés afecta la cognición actuando a través de las catecolaminas y los glucocorticoides. Las primeras involucran receptores adrenérgicos e interfieren sobre la disponibilidad de la glucosa, mientras que los glucocorticoides son los encargados de modular la plasticidad sináptica, produciendo a largo plazo cambios en las estructuras dendríticas. La exposición prolongada al estrés conduce a la pérdida de neuronas, particularmente las del hipocampo, y evidencias recientes sugieren que las alteraciones cognitivas están relacionadas con la secreción de glucocorticoides, al igual que los procesos memorísticos probablemente están relacionados con los cambios que el estrés produce en el hipocampo, y con la alteración que se produce en la amígdala por la acción de las catecolaminas (McEwen y Sapolsky, 1995).

Figura 1. Sistemas, áreas cerebrales y hormonales implicadas en la respuesta de estrés de la rata.



Adaptado de Joëls *et al.*, 2006.

ACTH: Hormona adrenocorticotrófica; NAM: Núcleo amigdalino; SNA: Sistema nervioso autónomo; HIPP: hipocampo; HYP: hipotálamo; LC: locus coeruleus; CPF: córtex prefrontal, HCT: Hormona liberadora de corticotropinas.

2.1.3 Categorización de los estímulos estresantes

Actualmente se aceptan dos grandes categorías de estímulos estresantes: estímulos estresantes de tipo sistémico (también denominados físicos o reactivos), y estímulos estresantes de tipo emocional (también denominados anticipatorios o procesativos). No obstante, esta clasificación no es siempre fácil de establecer, debido a que determinados estímulos estresantes tienen un perfil mixto (Márquez, 2006). Los de tipo sistémico, son aquellos que provocan perturbaciones directas en la homeostasis (reflejadas en parámetros fisiológicos) como los de tipo inmunológico, alteraciones metabólicas, y osmóticas, hipoxia o hemorragia. Todos ellos pueden activar la respuesta de estrés, a través de mecanismos reflejos que no implican percepciones conscientes. Por el contrario, los estímulos estresantes de tipo emocional, no constituyen una amenaza directa, sino potencial para el equilibrio homeostático y dan lugar a una activación emocional (Márquez, 2006).

Las respuestas a estímulos emocionales provocan activación de numerosas áreas del sistema nervioso central (SNC), donde la amígdala y el septum lateral desempeñan papeles importantes. La respuesta a estímulos sistémicos está regulada por áreas del tronco encefálico, y estos estímulos inducen la activación de un número más discreto de áreas encefálicas (Senba y Ueyama, 1997).

El término estrés hace referencia a las respuestas observadas tras la estimulación física y a los mecanismos de mediación endocrina. Sin embargo, algunas experiencias de alto contenido psico-emocional representan una forma particular de estrés, y a esta forma particular de estrés se le denomina ansiedad (Parmigiani *et al.*, 1999). Se puede concluir por tanto que el estrés en numerosas ocasiones, actúa como factor desencadenante de trastornos de conducta en el perro, condicionando ineludiblemente el bienestar del mismo y de su propietario.

2.2 Trastornos del comportamiento en el perro

Los problemas de comportamiento se definen como cualquier pauta de conducta de un animal doméstico que resulta peligrosa o simplemente molesta pudiendo crear algún inconveniente (Pirrone *et al.*, 2015). Sin embargo, esto no significa que aquella pauta sea anómala o perjudicial. Desde un punto de vista psicológico, el comportamiento considerado normal, en diferentes situaciones y por alguna razón pasa a no serlo, es decir, debido a una serie de estímulos externos provenientes del medio considerados estresantes, el animal se ve empujado a modificar su comportamiento alterándolo para adaptarse a la nueva situación (Biosca, 1998).

La primera función de los comportamientos y por tanto del sistema nervioso (SN) es permitir la adaptación a las variaciones del entorno, dicha función se relaciona con la plasticidad de los comportamientos, y por tanto se considera como patológico todo comportamiento que, al perder su plasticidad, ha perdido las funciones adaptativas para el animal (Pageat, 2000).

Para comprender la naturaleza de la conducta problemática en el animal, el comportamiento debe ser conceptualizado según el contexto ambiental que le rodea, la descripción de su etiología, y la situación problemática asociada, la cual ha convertido la

conducta en un problema para el propietario (Pageat, 2000; Askew, 2005). Sin embargo, se debe tener en cuenta que no todas las conductas indeseables, por muy molestas que le resulten al dueño, son patológicas (Mariotti, *et al.*, 2008).

2.2.1. Epidemiología de los trastornos de comportamiento

Existe una marcada heterogeneidad en la bibliografía científica que pretende dilucidar la presencia de los trastornos de comportamiento en los animales de compañía. Por ejemplo, en los Estados Unidos se ha estimado que el 40% de la población de perros tiene problemas de comportamiento (Lindsay, 2001). No obstante, estudios anteriores realizados en este mismo país muestran tasas que ascienden al 87% (Campbell, 1986). Por otro lado, en diversos trabajos de investigación se muestra que en el Reino Unido y Australia alrededor del 80% de los perros exhiben comportamientos indeseables (Lindell, 2002). En contraste con lo citado, en Dinamarca el 29% de los perros muestran algún tipo de problema (Rugbjerg *et al.*, 2003).

En España existen pocos estudios que citen la prevalencia de los problemas de comportamiento en los animales de compañía. Sin embargo, estudios realizados por Fatjó *et al.* (2006), muestran que las conductas destructivas se presentan con la misma frecuencia que los problemas de agresividad (48%). Estos datos contrastan con estudios estadounidenses, donde la agresividad es la queja más frecuente (Lindsay, 2001). Sin embargo, existe la posibilidad de que los datos suministrados tengan sesgos, debido a que la mayoría de los etólogos veterinarios y adiestradores de perros en España se encuentran concentrados en las principales zonas urbanas como lo son Barcelona y Madrid, lo que hace que en muchos lugares aún no existan especialistas en conducta, ni que se suministre información al respecto (Fatjó *et al.*, 2006).

Si bien, numerosos estudios científicos han mostrado que la agresividad es la patología más frecuente en el comportamiento de los perros (Yalcin y Batmaz, 2007), otros problemas de comportamiento como la eliminación inadecuada y los trastornos de ansiedad, especialmente el de separación, tienen una elevada incidencia (Bamberger y Houpt, 2006). No obstante, la mayoría de los estudios realizados reflejan que los perros muestran generalmente más de un problema de comportamiento (Campbell, 1986; Bamberger y Houpt, 2005; Fatjó *et al.*, 2006).

2.2.2. Factores que influyen en la presentación de problemas de ansiedad y agresividad en perros

Las posibilidades de que un perro desarrolle un problema de comportamiento pueden estar condicionadas por numerosos factores como la raza, la edad, el sexo, el estado reproductivo, el tipo de dieta e incluso la relación con los dueños (Pierantoni *et al.*, 2011). Informes recientes indican que la procedencia del perro también puede influir en la posibilidad para desarrollar problemas comportamentales (Serpell y Jagoe, 1995), pues algunos estudios sugieren que los perros callejeros adquiridos como animales de compañía, comprados en las tiendas de mascotas o procedentes de refugios, son más propensos a presentar problemas que los perros adquiridos de amigos, parientes, criadores, o criados en casa (Bennet y Rohlf, 2007).

La edad del perro ejerce influencia en la aparición de los comportamientos indeseables. Los cachorros son menos propensos a mostrar problemas de conducta. Este hallazgo puede ser en gran parte relacionado con la percepción del propietario acerca de que comportamiento es "aceptable" a una edad determinada, pues las mismas conductas, que se muestran en cachorros, puede que sean vistas como no aceptables en un perro adulto (Pierantoni *et al.*, 2011). Estudios realizados por Wells y Hepper (2000) especifican que conductas tales como la reactividad y los ladridos excesivos son consideradas como inaceptables en los perros jóvenes, corroborando así la idea de que los propietarios pueden tener ideas preconcebidas con respecto a lo que constituye un comportamiento aceptable con relación a la edad. Por otro lado, diferentes estudios en perros adultos confirman que estos exhiben más conductas agresivas frente a sus congéneres, lo que apoya la hipótesis de que los perros mayores de 3-4 años pueden exhibir problemas relacionados con la agresividad (Wright y Nesselrote, 1987).

En cuanto al sexo del perro, diferentes trabajos indican que los machos son más propensos a desarrollar problemas de comportamiento (González *et al.*, 2011). Por ejemplo, estudios realizados por Wells y Hepper (2000), concluyen que los perros machos pueden desarrollar problemas de agresividad hacia otros perros, conductas sexuales no deseadas y tendencias errantes, en mayor proporción que en las hembras. Lo que contrasta con estudios realizados por Guy *et al.* (2001), donde la presentación de conductas agresivas es más común en perras castradas.

Por otro lado, si se habla de trastornos de ansiedad existen muy pocos datos al respecto, diferentes estudios reportan que los perros machos enteros son menos propensos a tener procesos de ansiedad por separación. Aunque la falta de estudios hace que la influencia de este factor no esté claro (Takeuchi *et al* 2001).

Actualmente la influencia del factor racial en cuanto a la presentación de los problemas comportamentales es controvertida. En estudios realizados por Duffy *et al* (2008) se encontró que ciertas razas como Dachshund, Chihuahua y Yorkshire Terrier pueden manifestar más conductas de agresividad relacionadas con miedo hacia personas extrañas mientras que la raza Rottweiler presentó valores por debajo de la media al estudiar las conductas agresivas. No obstante, algunos autores citan que el comportamiento agresivo no necesariamente está relacionado con la raza del perro, y que no existen evidencias concluyentes al respecto, pues para ello es fundamental conocer no sólo la raza del animal que causa la mordedura, sino también el porcentaje que cada una de las razas supone sobre el total de las conductas agresivas. El hecho de que una raza sea aparentemente más peligrosa que otra, no significa necesariamente que las diferencias halladas sean genéticas (Manteca, 2003).

2.2.3. Diagnóstico de los problemas conductuales en el perro

La agresividad puede aparecer como resultado de una enfermedad física subyacente, un problema de comportamiento, o la combinación de ambos (Sueda y Malamed, 2014). Por tanto, el clínico debe, en primer lugar, descartar problemas médicos como la causa principal del cambio comportamental (Reisner, 2003).

Cuando el componente orgánico es la causa de un trastorno de comportamiento podemos saberlo generalmente debido a que la aparición de dicho problema se desencadena de forma aguda y sin motivo aparente, además presenta una progresión repentina y el problema de comportamiento no se puede explicar mediante un diagnóstico funcional coherente (Paris, 2006).

Una vez se descarten las causas orgánicas como parte de la presentación del trastorno del comportamiento, se deben obtener los antecedentes y los signos de comportamiento en el perro (Paris, 2006). Por ello, actualmente, la evaluación de los problemas de comportamiento del perro, se realiza mediante pruebas estandarizadas, las cuales exponen al animal a

diferentes estímulos que sirven para provocar comportamientos durante situaciones experimentales controladas. El resultado en estas pruebas se compara con otras pruebas donde los individuos son expuestos a las mismas situaciones, lo que permite establecer la clasificación de los problemas de conducta (Serpell y Hsu, 2001; Jones y Gosling, 2005).

En los últimos años, las investigaciones han expuesto metodologías que resultan ser útiles en la investigación de los problemas de comportamiento. Estos estudios implican la observación directa y la medición repetida del comportamiento a través de varias condiciones, las cuales tratan de imitar las situaciones posibles en las que el problema de comportamiento es observado por el dueño. Por otro lado, la observación del medio ambiente, ayuda a evaluar las posibles situaciones donde se puede producir el problema de conducta y permite saber cómo reaccionará el dueño ante dichas situaciones (Iwata *et al.*, 1994).

Autores como Jones y Gosling (2005) clasificaron cuatro técnicas diseñadas para facilitar la observación de las conductas. Estas son:

(a) Baterías de pruebas (test batteries) que registran las reacciones de los animales frente a la presentación deliberada de estímulos estandarizados.

(b) Uso de cuestionarios, generalmente respondidos por los dueños, donde se evalúa individualmente al animal.

(c) Puntuaciones de prototipos de razas, hechas por expertos que evalúan a las razas como un conjunto más que a perros individuales.

(d) Pruebas observacionales, con las que se observan las reacciones espontáneas del animal en ambientes no controlados por el evaluador.

Para medir la validez de estas metodologías es indispensable calcular las tasas de respuesta de la conducta objetivo en cada una de las condiciones. Las condiciones se repiten una o más veces con el objetivo de producir la conducta de interés a un ritmo constante. Algunas de las condiciones más comunes reproducidas son: el estar solo, la demanda de atención y el juego. En la condición por sí sola, el individuo se deja en un ambiente estéril donde no hay consecuencias sociales o artificiales disponibles, cuyo propósito es determinar si los problemas de comportamiento del individuo se mantienen por refuerzo automático

(Vaughan y Michael, 1982). Aunque las condiciones descritas anteriormente son los más comunes, y cubren la mayoría de las variables ambientales que desencadenan la conducta problemática (Carr y LeBlanc, 2003) algunos investigadores han encontrado que otras variables pueden mantener la conducta objetivo, tal es el caso donde se recrean situaciones para determinar si la entrega de elementos como reforzador, desata la conducta problemática en el individuo. Es decir, si el elemento entregado hace que se exhiba la conducta conflictiva (Hanley y Van de Kar, 2003). Todos estos factores deben ser considerados para establecer un correcto diagnóstico.

2.3. Principales trastornos del comportamiento en el perro

2.3.1 Ansiedad

2.3.1.1. Generalidades

La ansiedad probablemente es la emoción universal más común que puede presentarse a lo largo de la vida de un individuo (Tobal, 1996). El estado ansioso se encuentra dentro de los estados patológicos elementales, los cuales son el resultado de uno o varios procesos patológicos. Por ello el estado ansioso es considerado un estado patológico mayor; pues invalida considerablemente al individuo, modificando las relaciones que el perro establece con el entorno, sus congéneres y el hombre (Overall, 2000), siendo además una emoción compleja que se acompaña de respuestas fisiológicas, vivenciales, conductuales y cognitivas, y que cursa con estados de hiperactivación y alerta. En principio, la ansiedad es una respuesta adaptativa, proporcionada al estímulo que la origina y ha sido conservada a lo largo de la evolución (Gross, 1999). Así, puede definirse como uno de los procesos cerebrales directamente involucrados en la supervivencia de diferentes especies animales, especialmente de aquellas que por su naturaleza son víctimas de los depredadores (LeDoux, 1995).

Diferentes estímulos provenientes de situaciones que producen miedo, pueden ser evocadores de estados ansiosos. Por tanto, todas aquellas situaciones que producen estrés, derivadas de ambientes conflictivos forman parte del origen de los estados de ansiedad (Gómez *et al.*, 2002).

Las investigaciones en el área de la ansiedad se han encontrado a lo largo de su historia con dos grandes problemas, por una parte, la ambigüedad conceptual de la ansiedad, y por otra, los problemas metodológicos para abordar dicha patología. Existe una diversidad de enfoques, lo que hace muy difícil poder definir qué es la ansiedad de forma unánime, agravándose, aún más, el problema si consideramos que ésta ha sido abordada en múltiples facetas: como reacción emocional, respuesta, experiencia interna, estado, síntoma, etc., sin que se establezca un límite claro entre los distintos abordajes (Casado, 1994). A su vez, existe una gran confusión terminológica ya que, bajo la etiqueta de ansiedad, la literatura científica ha englobado otros términos que en muchos casos se han utilizado de forma indistinta con el término ansiedad, como es el caso de angustia, temor, miedo, amenaza, frustración y tensión, entre otros. En esta línea, son muchos los autores que han tratado de clarificar las diferencias entre los distintos conceptos (Bermúdez y Luna, 1980) pero en la práctica, se han empleado y se siguen utilizando frecuentemente como términos intercambiables (Casado, 1994).

Actualmente la definición de ansiedad engloba aspectos cognitivos displacenteros, de tensión y aprensión; aspectos fisiológicos, caracterizados por un alto grado de activación del sistema nervioso autónomo y aspectos motores que suelen implicar comportamientos alterados y escasamente adaptativos. La respuesta de ansiedad puede ser elicitada tanto por estímulos externos en diferentes situaciones, como por estímulos internos. Tal es el caso de los pensamientos, ideas e imágenes que son percibidos por los individuos como peligrosos y amenazantes (Tobal y Cano-Vindel, 1990). Sin embargo, el tipo de estímulo capaz de provocar la respuesta de ansiedad está determinado en gran medida por las características del individuo (Casado, 1994). Por ello, hoy en día el concepto ansiedad deja de verse como un concepto unitario, para ser entendido de una manera amplia y multidimensional, donde interactúan variables cognitivas, fisiológicas y motoras (Amorim, 1997).

La ansiedad patológica es una emoción persistente, incontrolable, excesiva, inapropiada y produce una disfunción generalizada con respuestas fisiológicas y de comportamiento, que carecen de valor adaptativo (Ohl, 2008). La diferencia entre la ansiedad normal y patológica se establece principalmente por grado de intensidad, frecuencia y duración de la respuesta (Spielberger *et al.*, 1984).

En los estados ansiosos, la amenaza no está definida, es desconocida, con frecuencia no se concreta en algo externo y no siempre tiene un carácter inmediato (Gonçalves, 2003). Es

un trastorno de curso variable, pero en general tiende a ser fluctuante y crónico, con períodos de mejoría y de empeoramiento que se relacionan con situaciones de estrés ambiental. Su sintomatología varía, siendo lo más frecuente el nerviosismo, los temblores, la tensión muscular, la sudoración, los mareos, las palpitaciones, los vértigos y los signos gastrointestinales (Bousoño *et al.*, 1999).

El miedo, sin embargo, es considerado tradicionalmente como un sentimiento producido por un peligro presente e inminente, encontrándose, por lo tanto, ligado al estímulo que lo genera, mientras que la ansiedad es más bien la anticipación de un peligro futuro, indefinible e imprevisible, siendo la causa más vaga y menos comprensible que en el miedo (Marks, 1986). En resumen, aunque ambas situaciones preparan al organismo para hacer frente a las situaciones de peligro, en el caso del temor el peligro es reconocible, mientras que en la ansiedad el peligro no es discernible (Asociación Americana de Psiquiatría, 1994).

Los problemas de conducta relacionados con el miedo y la ansiedad son comunes en el perro doméstico pudiendo incluir ansiedad por separación, fobias y agresividad relacionada con miedo (Overall, 1997a). Las respuestas al estrés se corresponden con cambios hormonales e inmunes, interviniendo dichas respuestas en la presentación de los procesos de enfermedad, pues el estrés y la ansiedad pueden tener efectos negativos sobre la salud y la esperanza de vida en el perro doméstico (Dreschel, 2010). Las condiciones psiquiátricas al involucrar circuitos neuronales complejos representan en los perros trastornos heterogéneos y por esta razón no hay "Santo Grial" de diagnóstico y tratamiento (Braff y Geyer, 1991). Aunque se conoce el impacto que estos problemas tienen sobre las interacciones de los perros con sus compañeros humanos y otros animales, actualmente los efectos sobre el bienestar físico y mental son menos estudiados (Overall, 1997b). Por ello, se necesita mayor número de estudios clínicos que permitan conocer la fisiopatología de los trastornos de ansiedad en el perro doméstico.

Una gran variedad de estudios han utilizado modelos animales para estudiar desórdenes relacionados con la ansiedad en los seres humanos (Ohl, 2008). Sin embargo, tal como plantea Ohl (2008) es importante definir y caracterizar la ansiedad patológica en los animales, sus respuestas fisiológicas y de comportamiento, las cuales podrían ser de utilidad para poder definir dicha patología en el ser humano. La posibilidad de simular padecimientos psiquiátricos en los animales, proporciona el sustento teórico de una gran parte de la investigación que se realiza en esta área.

2.3.1.2. Factores que determinan la presentación de conductas ansiosas

2.3.1.2.1. *Factores genéticos*

Importantes esfuerzos se han centrado en la identificación de factores genéticos que podrían contribuir al desarrollo de la psicopatología relacionada con el estrés. Se han utilizado modelos para estudiar las interacciones entre genes específicos y contingencias ambientales que pueden interactuar en la regulación del funcionamiento de la ansiedad. Esto ha permitido una evaluación controlada de factores genéticos y ambientales que contribuyen a conocer los fenómenos relacionados con el estrés (Bakshi y Kalin, 2000).

Existe una clara predisposición genética a patologías del comportamiento, ello no quiere decir que todas sean transmitidas genéticamente según el modelo mendeliano, sino que puede existir una posibilidad de ser heredadas. El medio ambiente del individuo tiene enorme impacto pues puede impedir o favorecer la expresión de un gen y condicionar el comportamiento (Caston, 1993). Estudios realizados sobre la ansiedad generalizada, han permitido conocer que no posee base genética clara y parece estar más ligada a hechos psicosociales, aunque es posible que para otros autores como Mericangas *et al* (1999) lo que se hereda evidentemente, es una cierta fragilidad en las funciones neurofisiológicas (sistema nervioso vegetativo), y bioquímicas que alteran el temperamento.

Gracias a las evidencias de estudios realizados en animales, se sabe que los factores epigenéticos están asociados con los problemas de conducta que se producen a lo largo de la vida (Mcewen, 2008). El desarrollo emocional del sistema nervioso comienza durante la fase temprana de la gestación (Pageat, 2000). Sin embargo, las vivencias durante el período post natal pueden estar asociadas con patologías del comportamiento en la vida adulta (Bebbington *et al.*, 2004), pues ciertos procesos crónicos emergen como respuesta alterada al estrés. El vínculo materno - filial débil o deficiente, está relacionado con el incremento de las respuestas autonómicas y endocrinas en la etapa adulta, lo que finalmente altera la respuesta del animal frente a los estímulos amenazantes (Bennett *et al.*, 2002).

2.3.1.2.2. *Factores hormonales*

Entre los diversos sistemas de péptidos y neurotransmisores que han sido implicados en la regulación del estrés, está el sistema de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) (Koob y Heinrichs, 1999). Estudios clínicos y preclínicos indican que el sistema de CRH

está implicado en la mediación autonómica, neuroendocrina y en la respuesta inmune del comportamiento ansioso. Es así como diversos estudios indican que las alteraciones en el sistema CRH podrían estar asociadas con psicopatologías relacionadas con el estrés, como la depresión y los trastornos de ansiedad (Mitchell, 1998).

Estudios realizados en primates no humanos, indican que el aumento de los niveles de CRH en líquido cefalorraquídeo están fuertemente correlacionados con una extrema actividad eléctrica del lóbulo frontal derecho, lo que conlleva a la presentación de comportamientos temerosos y a la presentación de estados ansiosos (Kalin *et al.*, 2000).

2.3.1.2.3. Factores ambientales

El desarrollo de conductas conflictivas en un animal, puede desencadenarse como respuesta a motivaciones internas, o ser producidas por reacciones al medio ambiente que le rodea (Dehasse, 2006). Ambientes empobrecidos, carentes de variedad y de estímulos sensoriales, afectan el desarrollo del sistema nervioso del animal y éste se mostrará más reactivo y excitable (Pageat, 2000).

Las diferencias en el temperamento de cada animal, y la manera de afrontar las situaciones cotidianas pueden estar condicionadas al componente genético. Sin embargo, los factores ambientales también tienen una gran contribución, ya que pueden afectar el desarrollo de diversas personalidades, asociadas con la angustia en perros (Tiira y Lohi, 2015).

Diferentes estudios muestran el impacto que tiene una carencia de socialización en los procesos de ansiedad y agresividad (Pageat, 2000). Los perros con una gran variedad de signos ansiosos han experimentado previamente una pobre vinculación con su madre, además, han pasado la mayor parte del tiempo solos y su participación en las actividades con el dueño son menos frecuentes (Tiira y Lohi, 2015). Por otro lado, la relación del dueño con su animal de compañía, puede condicionar la aparición de las conductas ansiosas, pues cualquier incongruencia en el sistema de comunicación, creará ambivalencia, ansiedad y posibles trastornos de comportamiento. Igualmente, los eventos familiares, como el nacimiento de un bebé, la muerte de un familiar y el cambio en las rutinas, puede incrementar la ansiedad, haciendo incluso que se incrementen las conductas agresivas (Dehasse, 2006).

2.3.2. Tipos de ansiedad en el perro

2.3.2.1. Ansiedad por separación

Tal como su nombre lo indica, la ansiedad por separación es un problema que aparece cuando el perro no tiene contacto con su propietario. Típicamente, puede manifestarse en dos situaciones diferentes: (a) cuando los propietarios abandonan el domicilio y el perro se queda solo o (b) cuando los propietarios están en el domicilio con el animal, pero éste no tiene acceso a ellos (Manteca, 2003).

Cuando los perros experimentan ansiedad por separación pueden desarrollar conductas que incluyen destructividad, vocalización, eliminación de orina o deposiciones, anorexia, babeo, intentos de fuga y/o depresión (Simpson, 2000; Takeuchi *et al.*, 2000). Signos menos reportados pero que igualmente comprometen el bienestar del animal incluyen: hiperventilación, trastornos gastrointestinales (vómitos/diarreas) aumento en la actividad motora y conductas repetitivas (Takeuchi *et al.*, 2000; Pageat, 1998). Por otro lado, en el intento que realiza el perro por evitar la salida del dueño, puede llegar a mostrar conductas agresivas con el objetivo de controlar la presencia del propietario (Pageat, 1998; Beaver, 1999).

El tratamiento de la ansiedad por separación requiere considerar muy bien el historial del perro y la presentación de los signos, aunque el diagnóstico se basa en la evidencia empírica (Overall, 1997; Simpson 2000) y esto plantea una dificultad debido a la falta de consenso para definir la enfermedad (Iracka, 1999)

Recientes estudios citan la importancia de la edad, la raza y el sexo en la presentación de sus signos (Takeuchi *et al.*, 2000). Perros mayores de 1,5 años de edad parecen tener mayor predisposición para desarrollar dicho trastorno. Sin embargo, en animales mayores puede aparecer como consecuencia del deterioro cognitivo producido por la edad (Takeuchi, 2000). Para autores como McCrave (1991), las razas mestizas presentan mayor prevalencia de la enfermedad, sin embargo, otros autores encuentran tasas más altas de presentación en razas puras (Flanagan y Dodman, 2001). En cuanto al sexo, existen pocos estudios al respecto. Sin embargo, en algunas investigaciones se ha reportado que los perros machos, presentan con mayor frecuencia la enfermedad (Storengen *et al.*, 2014).

Finalmente es importante tener en cuenta el papel que desempeña el propietario, pues éste puede desarrollar igualmente un vínculo de apego, lo que hace que exista un refuerzo no intencional por su parte, pero desencadenando el comportamiento dependiente y de sufrimiento en su animal (Pageat, 1998).

2.3.2.2. Ansiedad generalizada

Todas aquellas conductas que producen estados permanentes de angustia pertenecen al trastorno de ansiedad generalizada. Es un estado frecuente y constante de ansiedad y/o miedo, que conlleva al animal a que desarrolle respuestas no adaptativas frente a los estímulos que le rodean (Pageat, 2000). Este tipo de ansiedad se caracteriza por ser persistente y fluctuante en el tiempo, hace que el individuo pase la mayor parte del tiempo en estado de alerta y de tensión, afectando su bienestar mental y emocional (Maier *et al.*, 2000) .

Los signos clínicos que acompañan la ansiedad generalizada se caracterizan por: una actividad motora elevada, inquietud, sobresaltos, temblores, algias musculares y estados de fatiga. Puede existir hiperactividad autonómica, caracterizada por palpitaciones, opresión precordial, disnea, náuseas, polaquiuria, sudoración, diarrea y dificultad para tragar. Igualmente puede presentarse con estados de inquietud interna, temores difusos y desasosiego. Los estados de vigilancia y alerta acompañados de nerviosismo, irritabilidad, falta de atención y concentración, hipervigilancia e insomnio, también pueden acompañar dicha patología (Vallejo, 2011). La ansiedad generalizada puede prolongarse en el tiempo alcanzando así la fase crónica de la enfermedad (Montserrat Esteve, *et al.*, 1978) y cuando la ansiedad es permanente, se altera de forma continua el comportamiento del animal y se manifiesta por un estado de inhibición asociado a la producción de actividades sustitutivas (Pageat, 2000), las cuales finalmente interfieren en la interacción social del individuo y hacen que dichas conductas se presenten incluso en ausencia del estímulo provocador (Overall, 1997).

2.3.2.3. Trastornos compulsivos

Los comportamientos aparentemente anormales, repetitivos y sostenidos realizados fuera de un contexto normal se han descrito en varias especies de animales (Overall, 1992). Estos comportamientos siempre se han considerado como resultado de conductas conflictivas

inducida por el confinamiento y planes de cría específicos pudiendo incluso provocarse en situaciones ambientales alteradas, de frustración, estrés y ansiedad (Luescher, 2003). Las conductas compulsivas en su mayoría derivan de comportamientos normales motivacionales y se activan en situaciones de alta excitabilidad (Luescher, 2003), pues existe prolongación de estados conflictivos o frustrantes, lo que hace que estos comportamientos se conviertan en "anormales" y se expresen fuera de un contexto normal, de forma exagerada y repetitiva (Overall 1997).

Conductas como los mordiscos al aire, la persecución de la cola, el lamido continuo, son considerados estados compulsivos (Luescher, 2003). Estos comportamientos anormales en los animales de compañía son homólogos al comportamiento estereotipado del ganado y de los animales de zoológico, al igual que comparten similitudes con los trastornos obsesivos compulsivos de los humanos (TOC) (Goldberger y Rapoport, 1990). Este comportamiento compulsivo no es placentero, sin embargo, se ejecuta buscando reducir el estado de ansiedad (Hollander, 1993), lo que podría causar aumento en el estrés y alteraciones funcionales (Hwan *et al.*, 2010)

Los comportamientos compulsivos pueden estar relacionados con conductas agresivas, por ejemplo, en los perros puede darse una agresión auto-dirigida, donde puede gruñir y morderse su propio tren posterior o cola, atacar el plato de comida u otros objetos inanimados, incluso puede existir una agresión dirigida hacia las personas, lo que finalmente interfiere en la función normal del animal y puede afectar el vínculo con el humano (Luescher, 2003).

2.3.2.4. Estados fóbicos

Las fobias resultan del desarrollo de un proceso de sensibilización y evolucionan bajo la influencia de la anticipación. Es un estado reaccional caracterizado por la producción de respuestas de miedo o de temor y generalmente su evolución es espontánea y pasa por tres etapas sucesivas (fobia simple, fobia compleja, y estado pre-ansioso) (Pageat, 2000; Ballamwar *et al.*, 2008). Los procesos de miedo y ansiedad en los perros están estrechamente relacionados con las fobias (Overall, 2001). Existen diferentes estímulos que pueden asustar a un perro y hacer que se presente una respuesta fóbica, dando lugar a respuestas de pánico (Casey, 2006). Generalmente las fobias del perro adulto, corresponden a fobias post-traumáticas, aunque en cachorros, se presentan fobias ontogénicas, y en ambos casos los

animales pueden presentar respuestas de huida, e incluso mostrar respuestas agresivas (Pageat, 2000). Sin embargo, los signos que acompañan el estado fóbico hacen que el animal pueda orinar, defecar, jadear, babear, expulsar las glándulas anales, no obedecer a las órdenes, temblar, sacudirse, dilatar pupilas y ladrar (Ballamwar *et al.*, 2008).

2.3.3. Agresividad

2.3.3.1. Generalidades

Estudios realizados en diferentes especies corroboran la existente relación entre la ansiedad y la agresividad (Parmigiani *et al.*, 1999).

La agresividad es la entidad más comúnmente reportada en cuanto a problemas de comportamiento en caninos y la más consultada por el propietario (Pérez Guisado, 2009). Ha recibido mayor atención en todos los ámbitos de la sociedad durante los últimos años, debido a sus implicancias en salud pública (Amat *et al.*, 2009) pues involucra procesos de estrés y ansiedad, los cuales afectan el bienestar de los animales (Kruk *et al.*, 2004).

La agresividad puede considerarse como una conducta normal de los perros en ciertos contextos (Serpell y Jagoe, 1995), pues le permite al individuo sobrevivir mediante la competencia cuando los recursos son limitados (Anholt y Mackay, 2012). A pesar de ello, la mayoría de las veces es inaceptable, teniendo en cuenta la estrecha convivencia de los perros con el humano (Van den Berg *et al.*, 2006).

Es una conducta amenazadora, dirigida hacia uno o varios individuos, engloba una amplia variedad de conductas que van desde sutiles actitudes corporales, hasta ataques explosivos (Landsberg *et al.*, 2008). Cuando el veterinario clínico debe afrontar una conducta agresiva, generalmente se hacen suposiciones a la hora de realizar su diagnóstico y tratamiento ya que no es fácil su definición. El animal con conductas agresivas debe evaluarse con el fin de eliminar los posibles riesgos y daños futuros (Reisner, 2002).

Existen diversos factores que condicionan la aparición de las conductas agresivas (Van den Berg *et al.*, 2003; Duffy *et al.*, 2008) tal es el caso de las respuestas endocrinas, los estados frustrantes, el aprendizaje del individuo y las características genéticas. Los diferentes tipos de respuestas agresivas tienen diferentes bases fisiológicas, y cada uno de los tipos de

agresión pueden ser definido por el estímulo o la situación que los desencadena (Duffy *et al.*, 2008).

La conducta agresiva cursa con activación de varios circuitos neuronales, participa el sistema límbico cerebral y además están vinculados diversos neurotransmisores neuroquímicos, tales como las aminas, las cuales regulan las emociones y la afectividad del proceso agresivo (De Almeida *et al.*, 2015).

La agresividad canina plantea una serie de preocupaciones sobre el bienestar del animal y la salud pública pues existen diversos factores que condicionan su aparición. Aparte de los factores intrínsecos, tales como el sexo, la edad, el estado reproductivo y el peso, la evidencia sobre la importancia de las variables ambientales se ha estudiado ampliamente (Hsu y Sun, 2010). Ante un problema de agresividad en un perro, se deben plantear numerosas preguntas tales como hacia quién va dirigida la agresión (inter o intraespecífica), cuáles son los estímulos que desencadenan la respuesta agresiva o en qué circunstancias específicas aparece dicha respuesta (contexto), cuáles son los motivos por los que el animal manifiesta esta conducta (causas orgánicas o comportamentales) y finalmente cuál es el tratamiento más apropiado para el tipo de agresividad que presenta el perro (Beaver, 1999).

La mayoría de las agresiones en los animales se produce cuando estos poseen altos niveles de ansiedad (Parmigiani *et al.*, 1999). Sin embargo, existen pocos estudios que estudien la comorbilidad de estos dos trastornos en veterinaria, aunque se sabe que períodos prolongados de ansiedad, hacen que el individuo sea incapaz de inhibir los impulsos agresivos. Por lo cual la conducta agresiva se puede expresar como una forma de regular los niveles de ansiedad (Cicchetti *et al.*, 2014).

Tradicionalmente se ha planteado la cuestión de si la agresividad per se es una patología, y si los individuos violentos padecen trastornos psiquiátricos. Los planteamientos científicos más actuales postulan que la agresividad no es por sí misma una entidad patológica, sino que forma parte del cortejo sintomatológico de numerosos trastornos mentales y somáticos (López-Muñoz *et al.*, 1999).

2.3.3.2. Factores que determinan la presentación de conductas agresivas

2.3.3.2.1. *Factores orgánicos*

El examen somático constituye una fase indispensable de la consulta aun cuando sea evidente la patología comportamental. Existe la posibilidad de que haya una afección orgánica generadora de la alteración en el comportamiento. Alteraciones en el organismo pueden ocasionar modificaciones morfológicas asociadas a alteraciones emocionales (Pageat, 2000).

Debido a que el desarrollo de la conducta agresiva en los perros es multifactorial (Haug, 2008), problemas médicos subyacentes pueden provocar irritabilidad, la cual podría desencadenar problemas agresivos o agravar las situaciones conflictivas. Lesiones cerebrales pueden ejercer presión sobre la línea media del hipotálamo como consecuencia de un tumor, lo que puede incrementar la irritabilidad en el animal. Dichos cambios en la conducta pueden acompañarse por algunos efectos viscerales o metabólicos, que pueden llevar a cambios en la ingesta de alimento y agua (Hart *et al.*, 2009). Procesos epilépticos originados en el lóbulo temporal, también pueden desencadenar la conducta agresiva, al igual que deficiencias visuales o auditivas, las cuales pueden predisponer al animal a ser irritable debido a la incapacidad para ver si algo se acerca o aleja (Holliday *et al.*, 1970). Los procesos inflamatorios articulares, problemas hepáticos, hipoxias cerebrales, enfermedades infecciosas tipo rabia o *distemper*, hidrocefalia, intoxicación con organofosforados o metales pesados, problemas prostáticos, traumas u otras condiciones que produzcan dolor, pueden desencadenar la conducta agresiva. Igualmente deben estudiarse trastornos endocrinos que cursen con hipotiroidismo, y procesos pseudogestacionales donde los niveles de prolactina se encuentren elevados (Mertens, 2006).

Con objeto de identificar los síntomas agresivos asociados a trastornos somáticos, se propone el término "síndrome de agresividad orgánico" (Silver *et al.*, 1987). Este síndrome se observa en ciertos trastornos neurológicos del SNC y en algunas patologías sistémicas que afectan, secundariamente, al sistema nervioso (Tabla 1). Sin embargo, la sospecha de una causa médica primaria será mayor, si la agresividad aparece de forma repentina o no se halla un patrón distintivo o un estímulo externo desencadenante, especialmente en animales mayores (Sueda y Malamed, 2014).

Tabla 1. Patologías asociadas al desarrollo de conductas agresivas.

Trastornos psiquiátricos	Otras patologías orgánicas
Trastornos psicóticos	Hipoxia
Trastorno antisocial	Alteraciones electrolíticas
Trastorno límite de la personalidad	Disfunción hepática
Trastorno bipolar	Disfunción renal
Abuso de sustancias	Infecciones sistémicas
Trastorno por stress post-traumático	Hipoglucemia
Trastorno de pánico	Hipertiroidismo / Hipotiroidismo
Trastorno de ansiedad generalizada	Lupus eritematoso sistémico
Trastorno por déficit de atención con hiperactividad	Déficit vitamínico
Trastorno depresivo	Enfermedad de Cushing
Distimia	Porfirias

Adaptado de López-Muñoz *et al.*, 1999.

2.3.3.2.2. Factores Genéticos

Genetistas conductuales se han interesado por la agresividad, ya que se conoce la participación de los genes en su expresión. Esto ha sido evidenciado por criadores de perros, donde algunas razas han sido seleccionadas por su docilidad o por el contrario por su conducta agresiva. Las observaciones informales de los criadores, y unos pocos estudios sistemáticos de los patrones de la herencia de la agresividad, indican que este rasgo es complejo y es probable que esté influenciado por muchos genes, por lo que es un rasgo poligénico o de herencia cuantitativa (Tecott y Barondes, 1996).

Existen estimaciones acerca de la heredabilidad del comportamiento agresivo, y en monos, perros, ratones y aves, dichas estimaciones de heredabilidad de la conducta agresiva han mostrado que una proporción sustancial de la variación fenotípica de la conducta agresiva es debida a la variación genética (Anholt y Mackay, 2012). En consecuencia, la selección artificial de ciertos rasgos puede aumentar o disminuir el comportamiento agresivo de forma rápida, lo cual constituye la base para la domesticación.

En la expresión de la conducta agresiva, participan factores ambientales, los cuales influyen sobre factores internos (hormonas) y externos (estrés) determinados por el entorno físico, al igual que las experiencias previas y las condiciones durante el desarrollo pueden afectar la expresión genética de la agresión (Moore *et al.*, 1997). Por otro lado, el efecto de la raza en el comportamiento, y en particular sobre la expresión de la agresividad canina, se

ha sugerido en diferentes estudios (Takeuchi y Houpt, 2003). La asociación entre la raza y la agresión, podría deberse a los factores genéticos, las influencias maternas, y las actitudes de las personas con respecto a cada raza en particular (Strandberg *et al.*, 2005). Cualquiera sea la razón, ciertas formas de agresividad parecen ser particularmente comunes en algunas razas caninas (Reisner *et al.*, 2005). Sin embargo, los resultados de estudios realizados en esta área no pueden generalizarse (Fatjó *et al.*, 2007), pues la mayor parte de la información acerca de las diferencias entre las razas y su relación con la conducta agresiva, proviene de informes basados en estadísticas de mordedura, número de casos clínicos y opinión de los expertos.

Sin embargo, algunas veces existe información engañosa debido a sesgos atribuibles a un riesgo desproporcionado de lesiones asociadas con las razas físicamente más grandes y la existencia de estereotipos raciales (Duffy, 2008). Debido al mayor riesgo que supone un animal grande, los propietarios de estos tienden a buscar ayuda profesional con mayor frecuencia para tratar la agresividad de su perro. Además, cuando la agresividad es dirigida hacia ellos o hacia algún miembro de su familia, son más propensos a buscar ayuda en comparación con los dueños de perros que son agresivos con personas o animales desconocidos (Bamberger y Houpt, 2006).

Las estadísticas reportadas pueden suministrar la información correcta debido a que la mayoría de las mordeduras de perro no se denuncian a menos que sea necesaria la atención médica, lo cual es más probable que ocurra con las razas más grandes, las cuales ocasionan lesiones más graves (Lockwood, 1995).

Hart y Hart (1985) fueron pioneros en el uso de diferentes razas de perros con el objetivo de informar acerca de la relación existente entre el factor racial y la prevalencia de diversas conductas indeseables. Otros estudios realizados en diferentes países Reino Unido (Bradshaw y Goodwin, 1998), Italia (Notari y Goodwin, 2007), Japón (Takeuchi y Mori, 2007) y España (Fatjó *et al.*, 2007), han ayudado a proporcionar información acerca de los niveles de agresión presente en algunas razas. Por desgracia en los diferentes estudios ha sido difícil determinar si existe una raza en particular propensa a estados agresivos o si simplemente existen estereotipos raciales (Duffy, 2008).

2.3.3.2.3. Factores ambientales

Varios tipos de problemas conductuales comunes son el resultado de experiencias ambientales restringidas y con poca estimulación durante los 2-3 primeros meses de vida del perro (Askew 2005). El efecto de la experiencia temprana se traduce en cómo el animal afrontará el contacto con seres humanos, extraños, niños, y demás estímulos externos. Por consiguiente, se espera que el animal reaccione de manera temerosa hacia ellos el resto de su vida, ya que durante el período crítico el animal no ha podido relacionarse con dichos estímulos. Animales que son separados precozmente de su camada pueden temer a otros perros pues no los reconocen como coespecíficos, incluso pueden reaccionar temerosos ante el ruido del medio ambiente citadino, si han crecido en lugares rurales y silenciosos (Askew, 2005). De manera que se podría decir que el déficit de socialización es el factor más importante en el desarrollo de la agresividad en perros fisiológicamente normales (Haug, 2008).

Por otro lado, el origen del perro puede condicionar la presentación de los diferentes tipos de agresividad. En casos de agresividad por dominancia existe mayor riesgo de presentación en perros procedentes de centros de rescate en comparación con aquellos obtenidos directamente de criadores (Casey *et al.*, 2014). Quizás no es sorprendente que los perros procedentes de estas instalaciones tengan un mayor riesgo para la agresividad hacia el propietario, ya que muchos son abandonados por comportamientos indeseados (Diesel *et al.*, 2010). Sin embargo, los perros de centros de rescate tienen menor riesgo de agresividad hacia personas desconocidas, lo que refleja el trabajo de estas organizaciones en la rehabilitación previa a la adopción (Casey *et al.*, 2014).

Igualmente, la relación con el propietario puede condicionar la aparición de ciertos trastornos conductuales. Algunos perros se vuelven desobedientes y difíciles de controlar, pues algunos propietarios involuntariamente refuerzan la conducta desagradable en su animal, por ello conductas anormalmente agresivas se encuentran influenciadas por alteraciones existentes en su medio ambiente social (Overall, 2001; Askew, 2005). A pesar de la idea popular de que los dueños de perros son a menudo los responsables de alguna manera de los problemas de comportamiento de sus animales, la evidencia científica es escasa y contradictoria, pues algunos estudios no han podido detectar ningún vínculo entre la calidad de la relación dueño-perro y la aparición de problemas de conducta, mientras que

otros sugieren que algunos problemas de comportamiento pueden estar asociados con ciertos aspectos del propietario personalidad, actitudes y/o comportamientos (Jagoe y Serpell, 1996)

2.3.3.2.4. Factores Hormonales

Diversos factores neuroendocrinos median en las conductas agresivas (Chichinadze *et al.*, 2011). Mecanismos androgénicos, serotoninérgicos, noradrenérgicos, dopaminérgicos, y gabaérgicos, participan en la presentación de la conducta agresiva (Kudryavtseva, 2000; Haden y Scarpa, 2007). Los cambios en las concentraciones de diferentes microelementos como el magnesio, el litio y algunos lípidos y otros compuestos orgánicos, también se consideran contribuyentes en la presentación de la conducta agresiva (Chichinadze *et al.*, 2011). Sin embargo, el mecanismo neural de la agresividad es poco conocido a pesar de que varias sustancias neuroquímicas estén implicadas en su patogénesis (Umukoro *et al.*, 2013).

2.3.3.2.4.1. Serotonina

La serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT), es el principal neurotransmisor implicado en los procesos agresivos. Se ha demostrado su participación en el inicio, y la ejecución de la conducta agresiva (Gowin *et al.*, 2010). Varios estudios correlacionan los bajos niveles de serotonina en la agresión, pues según varias hipótesis el proceso agresivo se caracteriza por presentar bajos niveles cerebrales de 5-HT (De Boer y Koolhaas, 2005).

Es bien sabido que la aplicación aguda o crónica de 5-HT o medicamentos serotoninérgicos inhiben la conducta agresiva en diversas especies de vertebrados, incluyendo peces (trucha arco iris), reptiles (lagartija *Anolis carolinensis*), aves (palomas, gorriones), roedores (hámsters, ratones, ratas) perros y seres humanos (Summers y Winberg, 2006), por lo cual la estrategia farmacológica de aumentar los niveles de 5-HT al usar precursores de 5-HT o inhibidores de la recaptación de 5-HT, permite reducir el comportamiento agresivo en los animales (Caramaschi *et al.*, 2007). Por otro lado, dietas pobres en triptófano reducen la actividad serotoninérgica central lo cual hace que se aumenten los gestos de amenaza, los golpes, las persecuciones y los mordiscos, al igual que existe un incremento considerable en la conducta competitiva por alimento con otros animales. Por ello al aumentar la suplementación de triptófano se reduce la agresividad competitiva y los conflictos sociales (Manuck *et al.*, 2006).

2.3.3.2.4.2. Testosterona

Entre todas las hormonas, la testosterona es la hormona que más se ha vinculado con la conducta agresiva (Giammanco *et al.*, 2005). Dicha hormona ayuda a determinar las características morfológicas, fisiológicas, etológicas y psicológicas del individuo. Este hecho ha llevado a muchos investigadores a la conclusión de que los andrógenos son un factor determinante en la agresión (Chichinadze *et al.*, 2011).

La capacidad de la testosterona para facilitar el comportamiento agresivo se ha documentado en diferentes especies (Chichinadze *et al.*, 2011). Por ejemplo, en ratones (*Mus musculus*) la castración perinatal conduce a una reducción de la agresividad en la edad adulta (Motelica-Heino *et al.*, 1993) y la administración crónica de propionato de testosterona en la edad adulta conduce a la reducción de la conducta amenazante (Martínez-Sanchis *et al.*, 1998), sin embargo, diversos autores no correlacionan los altos niveles de testosterona con la conducta agresiva (Archer, 2006), pues se niega la participación de dicha hormona en la génesis de este comportamiento (Aujard y Perret, 1998), pues la función principal de la testosterona puede ser la formación de estructuras que generan las respuestas altamente agresivas a los estímulos externos, pero ello no implica que la testosterona sea el único inductor *in situ* de dicho comportamiento (Chichinadze *et al.*, 2011).

2.3.3.3. Tipos de agresividad en el perro

Existen múltiples clasificaciones de los tipos de agresividad en función de los distintos autores. Así, se han diferenciado desde 3 hasta 15 tipos diferentes de agresividad (Hart y Hart, 1985; Beaver, 1999). Si bien ninguna es perfecta en el plano puramente etológico y neurofisiológico, la definida por Moyer (1968) y modificada a lo largo del tiempo por diferentes autores (Tabla 2), tiene el mérito de ser simple y fácilmente utilizable en el perro (Pageat, 2000). Por otro lado, hay autores que restan importancia a una categorización estricta a la hora de realizar un diagnóstico. Esto es lógico puesto que el comportamiento animal, incluida la conducta agresiva, es algo complejo donde juegan un papel significativo numerosos factores. Sin embargo, es importante que haya un acuerdo en cuanto a la terminología aplicada a las conductas agresivas. (Fatjó *et al.*, 2007), para lo que los especialistas han desarrollado diferentes clasificaciones basadas en el blanco de los ataques, el contexto en que se produce la agresión y la postura que adopta el animal durante el episodio agresivo (Reisner, 2002).

Tabla 2. Tipos de agresividad definidos por Moyer (1968) y modificados por diferentes autores.

Agresividad predatoria	Motivada por la intención de cazar y posiblemente, aunque no necesariamente, matar y/o ingerir. Las presas suelen ir dirigidas hacia perros pequeños y objetos que se mueven deprisa tales como corredores y ciclistas. El animal puede mostrar toda o parte de la secuencia predatoria: mirar fijamente, acechar con la cabeza baja, perseguir, alcanzar, morder/atacar, matar e ingerir (Sueda y Malamed, 2014).
Agresividad entre machos	Dirigida hacia perros que viven en la misma casa o hacia perros desconocidos. Ocurre en dos contextos: 1. Conflictos de dominancia en el hogar, y 2. Defensa territorial frente a perros que no son miembros de la familia. Generalmente ocurren entre perros del mismo sexo (Overall, 1993).
Agresividad por miedo	Ocurre porque un individuo se encuentra atrapado en una situación amenazante, con pocas posibilidades de escape. Conlleva a secreción de catecolamina por lo cual cursa con respuestas viscerales y cardiorrespiratorias. No posee fase de intimidación, por lo cual el ataque es directo e imprevisible, al igual que no hay control del mordisco (Pageat, 2000).
Agresividad por irritación	Conocida como “ira”, “enojo” o también agresión “afectiva” ésta es provocada por estímulos vivos o inanimados. Viene precedida por la frustración, dolor, privación de alimentos, fatiga y falta de sueño (Overall, 1993).
Agresividad maternal	Se da en hembras gestantes o con pseudogestación. Ocurre en el posparto y durante la crianza de los cachorros y está mediada por la acción de los andrógenos y la progesterona. La perra percibe alguna amenaza hacia sus cachorros, si alguien se aproxima al sitio de crianza, muestra conductas agresivas de advertencia como son los gruñidos, puede llegar a morder si algún juguete o cachorro es tomado, o recurrir al canibalismo si existe una amenaza constante (Voith, 1996; Overall, 1997).
Agresividad sexual	Producida por estímulos sexuales ligados a la agresión entre machos, puede verse reducida mediante la castración. Aunque por lo general son menos agresivas que los machos, las hembras enteras pueden actuar con mucha agresividad hacia otros perros cuando están en estro (Hart <i>et al.</i> , 2009).
Agresividad instrumental	Se da porque estas respuestas agresivas son reforzadas por sus propias consecuencias. El animal aprende a utilizar la conducta agresiva como instrumento o estrategia conductual para obtener recompensas del propietario (Askew, 2005).
Agresión territorial	Dirigida a personas o animales extraños que invaden un área o espacio que el perro percibe como propio. Se manifiesta principalmente en la casa y el jardín del perro, pero también puede ocurrir en el coche o en áreas por donde pasea habitualmente. Cursa con posturas corporales ofensivas, por lo cual puede ser difícil diferenciar de la agresividad por miedo (Reisner 2003; Sueda y Malamed, 2014).

Adaptado de Amat, 2010.

2.4. Tratamiento general de los problemas de ansiedad y agresividad en el perro

2.4.1. Generalidades

La gestión de los trastornos del comportamiento en el perro, requiere la inducción de cambios en la conducta y posiblemente, es necesario instaurar programas de reducción del estrés, con el objetivo de mejorar la habilidad de los perros para hacer frente a situaciones conflictivas. Además de la terapia conductual, los medicamentos se han desarrollado para promover y acelerar la tasa de recuperación de los animales, debido a que permiten la implementación de los planes de modificación de conducta, al disminuir los estados ansiosos que interfieren en el aprendizaje (Loo *et al.*, 1990).

Cada caso requiere un programa de tratamiento diseñado para las necesidades del perro, las circunstancias de los propietarios, y el medio ambiente en el que el perro se encuentra. Adicionalmente, el tratamiento debe encaminarse a eliminar o al menos evitar un aumento

de los estados de ansiedad, donde en lo posible no exista alteración de las circunstancias y, sobre todo, no se altere la relación del perro con su dueño. Para ello, es fundamental proporcionar situaciones que permitan estados de relajación (Appleby y Pluijmakers, 2004).

En los casos de agresividad, lo primero a considerar es que cada caso es único y viene definido por muchas características individuales. Entre estas características se encuentran información sobre la historia del comportamiento del animal, su historia clínica y detalles sobre la situación específica en la que aparece la agresividad, incluida la identificación de los estímulos que la provocan (Reisner, 2003). Aunque el tratamiento de las conductas agresivas puede ser efectivo, hay limitaciones que se deberían abordar antes de empezar. La más importante es la advertencia de que el comportamiento agresivo no se puede “curar” o resolver por completo. Los propietarios deben comprender que alterar el comportamiento del perro lleva tiempo, y que la mejoría puede no ocurrir de manera lineal. Las recaídas son típicas en la mayoría de los programas terapéuticos, aunque es poco probable que el problema de comportamiento desaparezca para siempre, se puede manejar de tal forma que el riesgo de ataques disminuya (Luescher y Reisner, 2008).

Se debe crear un plan terapéutico personalizado para reducir la agresividad del perro. El pilar básico del tratamiento es un plan de modificación de conducta, que puede ir acompañado del uso de ansiolíticos que aceleren el proceso al modificar el estado mental del perro a uno favorable para el aprendizaje (Landsberg, 2001). Otros elementos importantes en el tratamiento son la educación del cliente, que debe entender por qué su perro es agresivo y cómo funciona el plan terapéutico; así como la documentación y el seguimiento, ya que es necesaria la comunicación con el cliente para resolver problemas y apoyarle durante el proceso terapéutico (Askew, 2005).

2.4.2. Técnicas de modificación de conducta

La mayoría de los trastornos del comportamiento en animales necesitan ser tratados con una terapia combinada de fármacos, terapia de conducta y modificación del ambiente (Ibáñez y Ánzola, 2009b). La monoterapia con psicoactivos en algunas ocasiones no se justifica debido a que pueden existir pocos hallazgos científicos disponibles acerca del uso de dicho fármaco para su uso en comportamiento animal. Es necesario evitar considerar la farmacoterapia como el único tratamiento para un problema de comportamiento hasta que no se conozca más al respecto (Marder, 1991). Así, los fármacos psicotrópicos pueden ser

coadyuvantes valiosos para un programa de modificación conductual, pero rara vez son curativos por sí solos (Landsberg, 2001).

Es por ello que un plan de modificación de conducta es fundamental para aumentar la sensibilidad del animal a las órdenes. Incrementar el control que los propietarios tienen sobre el comportamiento de su animal, hace posible un abordaje terapéutico correcto para muchos perros con conductas problemáticas (Overall, 1996). El implementar un programa de obediencia favorece que los perros respondan con mayor rapidez y confiabilidad a las órdenes del propietario. Dicho plan de obediencia deberá iniciarse con órdenes simples, siendo fundamental que las lleve a cabo el propietario, pues esto crea la conciencia en el cliente de que un protocolo de obediencia básico, le ayudará a manejar los futuros problemas de su animal más allá de la simple meta inmediata de adiestrar a su perro para sentarse, echarse, o venir (Askew, 2005)

Las clases de obediencia para los perros constituyen un medio excelente para desarrollar una buena relación con el animal y así aumentar el control sobre él enseñándole a responder a órdenes específicas. Sin embargo, la resolución de problemas tales como la ansiedad, agresividad, o eliminación inapropiada entre otros, deben tratarse no solamente con obediencia, pues en estos casos es necesario emplear técnicas específicas de modificación de conducta (Catanzaro, 2002), tales como la desensibilización sistemática, típicamente utilizada para eliminar miedos aprendidos y ansiedades, el contracondicionamiento para establecer nuevas respuestas emocionales incompatibles con el miedo o la ansiedad, el condicionamiento operante de nuevas respuestas, y la extinción de respuestas aprendidas no adaptativas (Hart *et al.*, 2009).

2.4.2.1. Principales técnicas de modificación de conducta utilizadas para el tratamiento de la ansiedad en perros

Las técnicas de contracondicionamiento y desensibilización son las más usadas en el tratamiento de la ansiedad en perros. En el contracondicionamiento se enseña al perro a exhibir, en presencia del estímulo que provoca los signos ansiosos, otro comportamiento que supone para él una sensación placentera y que es incompatible con el comportamiento indeseado. El perro primero debe aprender a exhibir la conducta sustitutiva bajo condiciones que no provoquen respuestas de ansiedad, y posteriormente deberá responder de la misma manera en presencia del estímulo provocador. El tiempo de exposición al estímulo y el nivel

de presentación del mismo deberá ir incrementándose paulatinamente según vaya habituándose el animal y siempre deberá ser reforzado todo comportamiento deseado a través de un premio (Overall, 1997).

En el caso de la ansiedad por separación, la utilización de técnicas de contracondicionamiento se realizan con el objetivo de disminuir la ansiedad asociada con la salida del propietario, reducir la hipervinculación entre el propietario y el perro y enseñar al perro como estar en casa solo sin ansiedad (Horwitz, 2006). Es importante entrenar al perro que experimenta agitación, ladrido, destructividad, evacuación en el hogar cuando se queda solo, a tolerar mejor estas ausencias, primero dejándolo solo por un período breve de tiempo, retornar y recompensarlo por esperar con tranquilidad y luego durante lapsos gradualmente más extensos en el curso de varios días a semanas (Askew, 2005).

En perros que presentan miedos y fobias, la desensibilización sistemática implica una exposición gradual al estímulo que evoca miedo, de manera que la respuesta de miedo no se provoca. Posteriormente el paso a la técnica de contracondicionamiento implica un componente de recompensa, pues la respuesta neutral al estímulo provocador se reemplaza con un estado emocional agradable consiguiendo así recompensar a la mascota cuando exhibe la conducta calmada, sin miedo, en presencia del estímulo provocador (Neilson, 2006). Es importante emplear un protocolo de obediencia para que el animal responda a las órdenes de sentarse, echarse, quedarse, y recompensar con premios alimenticios las conductas de tranquilidad y la no demostración de conductas temerosas (Askew, 2005). En el momento del refuerzo se deben utilizar bocados alimenticios que le gusten mucho al animal. Está bien establecido en experimentos de aprendizaje animal que el tamaño de la golosina es decisivo para aprender, pues los premios pequeños le permiten adquirir aprendizajes y no llenarse con facilidad. Por otro lado, el tamaño permite que se puedan administrar varios trozos en un período breve de tiempo sin reducir la motivación del animal (Askew, 2005).

Finalmente, en las conductas ansiosas es fundamental reducir el estrés e intentar el hallazgo de fuentes que permitan reducir la excitación y que producen conflicto en el perro. La incompatibilidad en la relación entre el perro y el dueño puede originar problemas, de modo especial, cuando ello acarrea un adiestramiento incoherente. El ambiente debe ser examinado para asegurar que el perro cuenta con los recursos que le proporcionen una estimulación física y mental suficiente (Landsberg, 2008a).

2.4.2.2. Principales técnicas de modificación de conducta utilizadas para el tratamiento de la agresividad en perros

En cuanto a la terapia conductual para los propietarios de perros agresivos lo primero y más importante es suministrar la asistencia adecuada. Se debe crear un plan terapéutico personalizado para reducir la agresividad del perro, donde el pilar básico del tratamiento es un plan de modificación de conducta. Las técnicas deben basarse sobre todo en procedimientos de reeducación. El castigo al igual que la confrontación, deben evitarse a toda costa (Sueda y Malamed, 2014).

En los casos de agresividad por dominancia se deben evitar las situaciones conflictivas, por ejemplo, retirar los juguetes u otros recursos que puedan desencadenar conductas de protección o agresividad, mientras el cliente acostumbra de forma gradual al perro a que se le aproxime, le toque o le sujete mediante ejercicios de desensibilización y contracondicionamiento (Luescher y Reisner, 2008; Sueda y Malamed, 2014). Para estos casos es importante emplear premios alimenticios para habituar gradualmente al perro a no gruñir a la hora de tocarlo, recompensándolo cuando no reaccione, e ir premiando si el animal acepta durante períodos más largos el contacto (Askew, 2005).

Es importante sugerirle al propietario que debe cambiar su comportamiento hacia su perro, haciendo énfasis en recompensar la conducta deseada e ignorar la conducta inadecuada. Las órdenes deben ser consistentes y se debe controlar el acceso a los recursos que valora el perro (Mertens, 2006). No se debe permitir que el perro suba a los muebles, o duerma en la cama del propietario, y los períodos de juego deben estar claramente definidos y ser iniciados por el dueño y no por el perro (Cameron, 1997).

Las sugerencias varían de acuerdo al caso, pero se deberá comenzar ignorando totalmente al animal durante algún tiempo, para luego realizar una ignoración sistemática, lo que implica no responder a ninguna solicitud de interacción iniciada por el animal, puesto que esto permitirá aumentar su control. El propietario será quien inicie cualquier interacción, ignorando las iniciativas del perro a establecer cualquier comunicación (Mertens, 2006). Conseguir que los dueños estén de acuerdo en estar pendientes y recompensar el comportamiento deseado a menudo es difícil. De hecho, algunos clientes no ven esta técnica como herramienta poderosa para la modificación del comportamiento (Cameron, 1997).

Se debe insistir en centrar el tratamiento hacia la excesiva atención que presta el propietario a su perro, y lo más importante se debe demostrar al perro el poder de ignorar, se debe evitar mirarlo, incluso evitar que descansa en su regazo. Se puede realizar dicha conducta durante el desarrollo de la consulta, con muy pocas excepciones el perro se resigna y se retira, al ver los resultados de esta ignoración consistente y persistente, la mayoría de los clientes se muestran receptivos a la ignoración en casa (Cameron, 1997).

Se debe aconsejar al cliente en las necesidades básicas de liderazgo, lo que implica consistencia en los comandos y órdenes, iniciación por parte del dueño de todas las actividades "sin comida gratis" y cumplir una orden antes de recibir cualquier beneficio (Cameron, 1997). Se recomienda practicar 10 minutos diarios de ejercicios de obediencia con correa. El protocolo de tratamiento debe utilizar la desensibilización y el contracondicionamiento, donde la idea es reducir la respuesta de agresión hacia el estímulo hasta que este llegue a ser tolerado. Se recomienda realizar sesiones cortas de 15 a 20 minutos una vez al día. Si el perro manifiesta algún signo de agresividad durante la sesión se deberá suspender la actividad y continuar cuando esté tranquilo (Overall, 1997).

Por otro lado, es recomendable utilizar barreras físicas y de sujeción que eviten daños hacia el propietario (Mertens, 2006). El uso de collares tipo haltie o gentle leader pueden ayudar con el control de la mascota (Overall, 1997). En resumen, el tratamiento debe ser dirigido no sólo hacia el comportamiento no deseado del perro, sino también hacia las habilidades del propietario (Cameron, 1997).

En los casos de agresividad intraespecífica, la desensibilización y el contracondicionamiento están recomendados para tratar ambos tipos de agresividad (Overall, 1993). Ya que las peleas entre perros dentro del hogar suelen estar provocadas por comida, la atención del propietario, las situaciones que desencadenen excitación, y todo ello debe ser evitado (Sherman *et al.*, 1996).

El reparto de recursos en una casa con varios perros es esencial. El propietario debe controlar el acceso a cualquier recurso y asegurarse de que éstos se pueden proporcionar a los perros de forma segura y calmada (Horwitz y Pike, 2014). Incluso es aceptable separar a los perros cuando no estén supervisados (Horwitz, 2008). Cuando dos perros estén peleando, los propietarios no deben intentar separarlos. Una vez que los perros han dejado de pelear, se les debe mantener separados hasta que se calmen. Cuando se vuelvan a juntar, ambos

deben llevar correa y deben estar bajo control. Los propietarios pueden ordenarles que se sienten y ver si los animales pueden estar juntos sin mostrar respuestas agresivas o de miedo (Horwitz, 2008). El perro líder debe ser identificado por los dueños, y el liderazgo debe ser acentuado, asegurando que obtenga todos los recursos primero, por ejemplo, los premios, el paseo, la comida, el juego, etc. (Overall, 1997; Landsberg, 1998).

En el caso de los perros agresivos a perros desconocidos, la primera etapa del programa modificador de la conducta, es hacer que el perro obedezca a comandos simples (sentado, echado, quieto) en un ambiente en el cual se sienta protegido y no expuesto a ningún estímulo aversivo ya que es importante que el dueño ejerza el control total para que pueda manejar la situación. Posteriormente, se debe iniciar una desensibilización mediante la aproximación con otros perros (Overall, 1997; Landsberg, 1998).

2.4.3. Tratamiento farmacológico

La era de la psicofarmacología se inicia a finales de la década de los 40 con la comunicación del efecto antimaniaco de las sales de litio por John F. Cade en 1949. El estudio de Cade, publicado en la revista *The Medical Journal of Australia*, bajo el título: sales de litio en el tratamiento de excitación psicótica (lithium salts in the treatment of psychotic excitement) es el punto de partida. En la década de los 50, nació el término denominado revolución psicofarmacológica con la introducción de 3 grandes grupos farmacológicos. Se propone a la clorpromazina como fármaco antipsicótico (Delay y Deniker, 1972) y un poco más tarde se introducen los antidepresivos. Posteriormente en la década de los 60, se habla de las benzodiacepinas. Un segundo salto cualitativo en la historia de la psicofarmacología se produjo cuando se introdujo en los años 80 la fluoxetina, un inhibidor selectivo de recaptación de la serotonina (Mericangas, 1999).

El interés por la terapia farmacológica en etología clínica radica en que la medicación psicoactiva produce cambios en la conducta del individuo. Dichos agentes farmacológicos se han usado durante décadas en psiquiatría humana y su eficacia ha mejorado el conocimiento acerca de la compleja interrelación entre la química cerebral, los estados emocionales internos y la conducta (Crowell-Davis y Murray, 2006). Es difícil comprender la mente animal, aunque es posible valorar los cambios de conducta que se producen como consecuencia de la administración de fármacos que acceden al cerebro. Estos cambios pueden valorarse de acuerdo al contexto, la organización e interpretación social típica de la

especie, e interpretar lo que, probablemente después, esté pasando en función de los cambios del estado emocional y de las motivaciones del animal. Es así como el uso de fármacos psicoactivos se ha incorporado rápidamente a la práctica de los veterinarios clínicos de la conducta, porque a menudo su empleo puede ser de gran ayuda en el tratamiento de importantes problemas de comportamiento (Crowell-Davis y Murray, 2006).

La mayor parte de los desórdenes del comportamiento pueden ser reducidos tanto en frecuencia como en severidad mediante el uso de fármacos psicotrópicos (Overall, 2001; Landsberg, 2008a). El uso más habitual de estos se realiza como auxiliar en la terapia de modificación de conducta, como por ejemplo en los casos de ansiedad por separación, miedos, fobias y agresividad. La prescripción de los fármacos psicoactivos para tratar los problemas del comportamiento animal puede ser necesaria en casos de miedos y fobias con marcada generalización y sensibilidad extrema, debido a que inicialmente es difícil aplicar con eficacia alguna terapia conductual específica (Landsberg, 2001). En tales circunstancias, la respuesta favorable a la modificación del comportamiento es muy difícil de alcanzar y el nuevo aprendizaje requerido es apenas mínimo y anulado rápidamente por las recaídas recurrentes inevitables. En esta situación, la farmacoterapia inicial puede funcionar estabilizando al animal hasta el punto requerido para iniciar la terapia conductual (Landsberg *et al.*, 1997; Askew, 2005). Por ello diferentes autores aconsejan la utilización de medicamentos ya que facilitan los tratamientos, y ayudan a reducir la peligrosidad en caso de agresividad, y una de sus mayores ventajas es reducir el tiempo de terapia (De Lucas *et al.*, 2004).

En los casos de ansiedad, es necesaria la utilización de medicamentos ansiolíticos que favorezcan la terapia de modificación conductual y permitan conseguir mejoras a corto plazo (Ibáñez y Ánzola, 2009b). Por otro lado, el rápido efecto terapéutico de un agente puede inicialmente ser beneficioso al incrementar la motivación del propietario para continuar el tratamiento de manera diligente y de esta manera se fomenta el cumplimiento de las recomendaciones de la terapia conductual (Dodman y Shuster, 2000). Igualmente es recomendable el uso de la medicación como sostén de la terapia conductual en casos en los cuales existen condiciones que impiden llevar a cabo el plan terapéutico, como por ejemplo las limitaciones del propietario, tales como la falta de tiempo, de motivación, entre otras (Hart y Cooper, 1996). Sin embargo, el uso de agentes farmacológicos que acompañan a la terapia de conducta puede tener algunas desventajas. Por ejemplo, si se asume desde el

comienzo que la medicación será la principal responsable de producir el efecto beneficioso, la terapia conductual se puede considerar secundaria, por lo tanto, el cumplimiento de las medidas de modificación conductual tiende a ser deficiente. Por otro lado, algunos medicamentos pueden interferir con los procesos de aprendizaje que son necesarios para la terapia conductual satisfactoria (benzodicepinas) (Askew, 2005). Por último, autores como Hart y Cooper (1996) hablan del concepto ético al administrar una medicación psicoactiva a un animal sin modificar los factores subyacentes que están motivando el problema.

En casos de ansiedad por separación se han obtenido mejores resultados cuando se pone en marcha un plan combinado de modificación de conducta y tratamiento ansiolítico, pues en algunos casos sólo el plan de modificación conductual no es suficiente (Simpson *et al.*, 2007; Landsberg *et al.*, 2008). La meta es reducir el trastorno ansioso y el miedo tan rápido como sea posible y así establecer el equilibrio emocional apropiado en el perro, para que responda mejor al aprendizaje (Sherman y Mills, 2008).

Para los casos de agresividad, un primer problema que se le plantea al clínico, es la dificultad de encontrar un método idóneo para evaluar la conducta agresiva y su variación tras la administración de un determinado fármaco. En segundo lugar, nos encontramos con una carencia de fármacos específicos para el manejo de estas conductas, habiéndose de recurrir a un amplio abanico de agentes psicofarmacológicos, inicialmente diseñados para el tratamiento de otros trastornos (López-Muñoz *et al.*, 1999). Teniendo en cuenta la inexistencia de fármacos antiagresivos, los más utilizados en el manejo de episodios agudos de agresión son los neurolépticos, recurriéndose a lo que algunos autores han denominado como "tranquilización rápida". Por otro lado, como alternativa al uso de neurolépticos están ciertas benzodicepinas, incluso estas parecen ser el fármaco de elección para administrar conjuntamente con neurolépticos y así poder reducir la dosis de éstos y minimizar sus posibles efectos secundarios (Simpson y Anderson, 1999). Por último, y más recientemente, el uso de fármacos antidepresivos de tipo serotoninérgico se está implementando en aquellos casos de conductas agresivas impulsivas (López-Muñoz *et al.*, 1999).

Autores como Overall (2001) señalan con optimismo el futuro desarrollo en el campo de la etología veterinaria, citando que los avances terapéuticos futuros en medicina del comportamiento serán de tipo farmacológico y neurofisiológico. Al ir aumentando el interés en la medicina conductual, se incrementará el uso de la terapia combinada y la necesidad de la intervención de la neurofarmacología como herramienta diagnóstica (Askew, 2005).

2.4.3.1. Clasificación de agentes psicotrópicos

Los psicótropos de interés terapéutico se han clasificado de forma diferente a lo largo de los últimos años. Las clasificaciones más conocidas se reagrupan para reconocer cuatro entidades: a) los depresores del sistema nervioso central y del psiquismo (psicolépticos), b) los estimulantes de la vigilancia y del humor (psicoanalépticos), c) los timorreguladores o reguladores del humor (normotímicos) y d) los analépticos nerviosos (Pageat, 2000) (Tabla 3). Sin embargo, los agentes farmacológicos más utilizados para modificar conductas anormales son lo que aparecen reflejados en la tabla 4.

Tabla 3. Clasificación de psicótropos de interés clínico.

<i>Depresores del sistema nervioso central y psiquismo (psicolépticos)</i>	
Hipnóticos	Inducen sueño profundo y poseen propiedades anticonvulsivantes. Pertenecen a este grupo los barbitúricos y sustancias emparentadas (primidona, difenilhidantoína) entre otras.
Neurolépticos	Calman la agitación, la agresividad y poseen propiedades antialucinatorias. También son clasificadas como tranquilizantes mayores.
Ansiolíticos	Disminuyen la ansiedad, desinhiben, algunos poseen propiedades anticonvulsivantes o son capaces de inducir sueño. También se clasifican como tranquilizantes menores.
<i>Estimulantes de la vigilancia y del humor (psicoanalépticos)</i>	
Anfetaminas	Aumentan la vigilancia, suprimen la sensación de fatiga y de hambre, pueden desencadenar estados delirantes con alucinaciones y pueden tener efecto rebote con estado depresivo.
Antidepresivos	Poseen efecto estimulante del humor. Actúan aumentando la concentración de monoaminas en los espacios sinápticos.
<i>Timorreguladores o reguladores del humor (normotímicos)</i>	
Sales de litio	Actúan sobre la fluidez de la membrana celular controlando la circulación de iones de Na ⁺ y K ⁺ . Disminuyen la frecuencia y la intensidad de los estados distímicos.
Anticonvulsivantes	Capaces de interactuar con receptores GABA y/o con receptores de adenosina tipo A1. Poseen el mismo efecto de las sales de litio, pero además poseen propiedades antidepresivas.
<i>Analépticos Nerviosos</i>	
Sustancias capaces de facilitar el funcionamiento neuronal, favoreciendo la circulación sanguínea o bien facilitando el metabolismo oxidativo de la glucosa a nivel de la célula nerviosa.	

Adaptado de Crowell- Davis y Murray, 2006

Tabla 4. Agentes farmacológicos más usados en etología clínica.

NEUROLEPTICOS	FENOTIAZINAS Acepromacina clorpromacina	Fobias anticipables
	BUTIROFENONAS Haloperidol	Conductas compulsivas, terapias refractarias con ISRS
ANTIDEPRESIVOS	TRICICLICOS Clomipramina Amitriptilina Imipramina	Conductas compulsivas, ansiedad, agresión, problemas de eliminación (gato)
	INHIBIDORES SELECTIVOS DE RECAPTACIÓN DE SEROTONINA Fluoxetina Paroxetina	Conductas compulsivas, ansiedad, agresividad (por dominancia), problemas de eliminación (gato)
	INHIBIDORES DE LA MONOAMINOOXIDASA Selegilina	Disfunción cognitiva en animales mayores
ANSIOLITICOS	BENZODIACEPINAS Diazepam Alprazolam Clorazepato	Fobias anticipables, ansiedad, agresión relacionada con ansiedad, problemas de eliminación (gato)
HORMONAS	PROGESTAGENOS Acetato de megestrol Acetato de medroxiprogesterona	Agresividad entre machos (perros) Problemas de eliminación
FEROMONAS	Feromona facial F3	Problemas de eliminación

Adaptado de De Lucas, *et al.*, 2004.

2.4.3.2. Utilización de las benzodiacepinas en el tratamiento de problemas conductuales

Las benzodiacepinas constituyen el grupo farmacológico más empleado en el tratamiento de la ansiedad (Dodman y Shuster, 2000). Actúan como ansiolíticos cuando son administrados a dosis moderadas y facilitan la interacción social (Overall, 1997). Durante años medicamentos tales como el diazepam y el clorazepato se han empleado para el tratamiento de varios estados relacionados con el miedo en animales de compañía, incluyendo miedos animados, fobia a los ruidos y ansiedad por separación (Marder, 1991). Esto es importante, ya que no es común que los propietarios notifiquen a su veterinario conductas de miedo. Suele ocurrir que cuando el problema se complica ellos están dispuestos a realizar la eutanasia si no encuentran una solución rápida. Su eficacia inmediata y discreta hace que sean particularmente útiles para tratar el miedo inducido por estímulos específicos previsibles (Crowell-Davis y Murray, 2006). Las benzodiacepinas más utilizadas en animales domésticos se citan en la Tabla 5.

Las benzodiacepinas poseen propiedades ansiolíticas, relajantes e hipnóticas. En la práctica clínica se utilizan principalmente para controlar los síntomas de la ansiedad y el insomnio (Ashton, 1994). Existe una amplia evidencia acerca de su utilización a corto plazo,

sin embargo, los estudios de su uso a largo plazo son menos comunes. Una obvia razón de la falta de ensayos clínicos para la utilización a largo plazo de las benzodiazepinas, no sólo es de carácter pragmático, sino también de ética, pues no es justificable su administración por más de unas pocas semanas, debido al alto riesgo de producir efectos secundarios y dependencia (Manthey, 2012). Sus efectos específicos incluyen la reducción de los síntomas fisiológicos de ansiedad, de los temblores y ataques. Algunas evidencias sugieren que los efectos de las benzodiazepinas son sedativos, sin embargo, la aparición de sus efectos ansiolíticos se da tras una semana de tratamiento lo que concuerda con la disminución de los estados de somnolencia (Sussman,1993).

Tabla 5. Benzodiazepinas más comunes, usadas en perros y gatos.

Nombre genérico	Nombre comercial	Dosis en perros	Dosis en gatos
Alprazolam	Trankimazin	0.02-0.1 mg/kg c4h	0.0125-0.25mg/kg c8h
Clordiazepoxido	Librium	2.0–6.5mg/kg c8h	0.2–1.0mg/kg c12h
Clonazepam	Klonopin	0.1–0.5mg/kg c8h	0.015–0.2mg/kg c8h
Clorazepato dipotasico	Tranxilium	0.5–2.0mg/kg c4h	0.5–2.0mg/kg c12h
Diazepam	Valium	0.5–2.0mg/kg c4h	0.1–1.0mg/kg c4h
Flurazepam	Dalmane	0.1–0.5mg/kg c12h	0.1–0.4mg/kg c 12h
Lorazepam	Orfidal	0.02–0.5mg/kg c8h	0.03–0.08mg/kg c12h
Oxazepam	Serax	0.04–0.5mg/kg c6h	0.2–1.0mg/kg c 12h

Adaptado de Crowell-Davis y Murray, 2006.

2.4.3.2.1. Generalidades

2.4.3.2.2. Mecanismo de acción

Los diferentes tipos de receptores benzodiazepínicos se encuentran en el sistema límbico, en los centros de excitación del tallo encefálico, el cerebelo, el hipocampo, la corteza y la médula espinal (Doble y Martin, 1992). Cuando las benzodiazepinas se unen a estos receptores, se produce un aumento en la afluencia de cloruros dentro de la célula, con la consiguiente hiperpolarización. El efecto neto es la inhibición de la neurotransmisión, lo que conlleva al alivio de la ansiedad, así como también se pueden producir los efectos de sedación, ataxia, relajación muscular y deterioro del aprendizaje y la memoria, entre otros (Dodman y Shuster, 2000). Las benzodiazepinas actúan mediante la modulación de las acciones del GABA, el principal neurotransmisor inhibitorio en el cerebro, a través de su unión a receptores GABA_A (Hart *et al.*, 2009).

Los receptores GABA son proteínas unidas a membrana que pueden dividirse en dos subtipos: GABA_A y GABA_B (Mondragón *et al.*, 2010). El receptor GABA_A consta de cinco subunidades y se forma a partir de al menos 15 subunidades (α 1-6, β 1-3, γ 1-3, δ , y P1-2). Los receptores más comunes se encuentran formados de dos subunidades alfas, dos betas y una gamma ($2\beta 2$) (Froestl, 2011). La subunidad α 1 es la más abundante en la mayoría de las áreas del cerebro (Watanabe *et al.*, 2009). Sin embargo, en el hipotálamo y el hipocampo, α 2 es la subunidad más dominante (Backberg *et al.*, 2004), mientras que en las capas corticales profundas α 3 es la subunidad principal (Loup *et al.*, 1998). Por lo tanto, las benzodiazepinas pueden tener distintas afinidades por las diferentes combinaciones de las subunidades de los receptores GABA_A, lo cual resulta en diferentes acciones farmacológicas (Whiting, 2003). Estudios realizados en ratones knock-out encontraron que los agonistas de α 1 se asocian a los efectos hipnóticos, amnésicos, anticonvulsivos y adictivos. Por otro lado, los agonistas de α 2 median los efectos ansiolíticos y miorrelajantes, y los agonistas inversos de α 5 mejoran el aprendizaje y la memoria (Froestl, 2011).

2.4.3.2.3. Farmacocinética

Tras su administración por vía oral, la mayoría de las benzodiazepinas se absorben rápidamente, pues son compuestos muy liposolubles y atraviesan con facilidad las membranas biológicas. Sin embargo, su absorción puede retrasarse con la presencia de alimentos en el estómago, y tras la administración de otras sustancias tales como los antiácidos, los antidepresivos, inhibidores de la monoaminoxidasa y anticolinérgicos (Mondragón *et al.*, 2010). La concentración máxima de estos medicamentos puede variar desde varios minutos hasta horas (Riss *et al.*, 2008). Su biodisponibilidad varía entre el 80% y 100%, a excepción del midazolam cuya biodisponibilidad es menor debido al metabolismo realizado por la vía del citocromo P-450, lo que puede reducir hasta en un 50% la fracción de la dosis que llega al torrente sanguíneo (Anderson, 2002). Atraviesan la barrera hematoencefálica rápidamente, aunque la velocidad de difusión varía según el medicamento y está determinada por sus capacidades lipofílicas, (Rey *et al.*, 1999) teniendo en cuenta que cuanto mayor sea su difusión más rápido aparecerán sus efectos farmacodinámicos (Riss *et al.*, 2008).

La concentración plasmática dependerá de la rapidez de su absorción y generalmente para éste grupo se toma como referencia al diazepam. Dicha concentración se alcanza aproximadamente en una hora, aunque con otras benzodiazepinas se produce una segunda

concentración plasmática entre las seis y doce horas debido a la recirculación enterohepática (Mondragón *et al.*, 2010). La distribución, depende de la liposolubilidad relativa de cada una de las benzodiazepinas. Una importante fracción de la dosis absorbida está ligada a las proteínas plasmáticas (60 al 90%), mientras que la fracción libre se difunde por una parte, en el compartimento central (sangre, sistema nervioso central) y otra parte en el compartimento periférico (tejido adiposo) (Pageat, 2000). Existe una rápida captación en el encéfalo y otros órganos si es administrada intravenosamente al igual que en el caso de la administración oral de un compuesto de absorción rápida. Posteriormente su distribución llega hasta músculos y tejido adiposo y su concentración en líquido cefalorraquídeo es mayor que en el plasma (Hurlé *et al.*, 2008). Su metabolización es realizada por el hígado, de ahí la necesidad de monitorear dicho órgano al iniciar el tratamiento farmacológico (Crowell-David y Murray, 2006). Su metabolismo ocurre en dos fases. La primera fase se lleva a cabo por oxidación y reducción por parte del sistema enzimático citocromo P-450, lo que da lugar a los metabolitos activos; la segunda fase se lleva a cabo mediante conjugación con el ácido glucurónico cuyo objetivo es la formación de compuestos inactivos que serán eliminados en la orina, aunque en menor porcentaje también se excreta en las heces (Mondragón *et al.*, 2010).

Una amplia gama de benzodiazepinas están disponibles, principalmente como agentes ansiolíticos e hipnóticos. Poseen acciones similares entre ellas, aunque las diferencias se presentan según la duración de su acción, lo que depende de su vía media y de la presencia o no de metabolitos psicotrópicamente activos (Lader, 2011). Dentro de las benzodiazepinas de acción prolongada encontramos al diazepam y al clorazepato dipotásico, sin embargo, también existen benzodiazepinas de acción corta como es el caso del alprazolam (Pageat, 2000). Las ventajas de las benzodiazepinas de semivida larga sobre las de corta, radica en que la posología es menos frecuente, existe menor concentración plasmática y el síndrome de retirada suele ser menos intenso. Sin embargo, existe mayor riesgo de acumulación, por lo cual puede afectar la psicomotricidad y ocasionar sedación diurna, lo contrario ocurre para las benzodiazepinas de corta semivida, requiriendo así una posología más repetida (Mondragón *et al.*, 2010).

2.4.3.2.4. Acciones terapéuticas

Es importante recordar que el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) desempeña un papel central en la reacción neuroendocrina de estrés y ansiedad del organismo, al igual que

regula los estados de ánimo, debido a que las benzodiazepinas se unen a los receptores GABA_A, los cuales se encuentran densamente localizados en el núcleo paraventricular (PVN) del hipotálamo (Loup *et al.*, 1998) y pueden afectar directamente el eje HPA. Posiblemente, las benzodiazepinas inhiben la producción de la hormona liberadora de corticotropina (CHR) a través de su acción en los receptores GABA_A en el PVN del hipotálamo, lo que conduce finalmente a una menor secreción de la hormona adrenocorticotropica (ACTH) en la glándula pituitaria, y por ende una menor producción de cortisol en las cortezas adrenales, y de ahí subyace su acción ansiolítica (Manthey, 2012).

Las benzodiazepinas son altamente eficaces en el manejo de la ansiedad y presentan un amplio índice terapéutico, por lo que se consideran fármacos seguros. Varios estudios controlados con placebo han comparado la eficacia de las distintas benzodiazepinas, mostrando que son igualmente efectivas en el tratamiento de la ansiedad generalizada, decidiendo optar por una u otra sobre la base de sus propiedades farmacocinéticas (Boussard *et al.*, 2002). Además de su acción ansiolítica las benzodiazepinas también podrían reducir la hiperactividad del sistema nervioso vegetativo (Drugan y Holmes, 1991). Actualmente, los investigadores sugieren que las benzodiazepinas serían más efectivas en el tratamiento de los síntomas somáticos, mientras que los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) serían más efectivos en el tratamiento de los síntomas psíquicos de la ansiedad (Brawman-Mintzer, 2001). La tendencia actual es reservar las benzodiazepinas para un uso transitorio, intentando encontrar la mínima dosis que logre el efecto terapéutico buscado (Papp, 2000). Su efecto ansiolítico probablemente está relacionado con el hecho de que las benzodiazepinas suprimen la actividad en muchas áreas del cerebro límbico y en otras estructuras implicadas en la ansiogénesis, incluyendo el área septal, la amígdala, el hipocampo, el hipotálamo, el locus coeruleus y los núcleos del rafe. Además, disminuyen el volumen de concentración de la acetilcolina, la noradrenalina, la serotonina y la dopamina en estas áreas. Dicha supresión de las vías noradrenérgicas y/o serotoninérgicas parece ser de particular importancia en la relación con los efectos ansiolíticos (Ashton, 1994).

Además de su efecto ansiolítico, la gran mayoría poseen efectos sedantes, anticonvulsivantes y miorelajantes. Atenúan las anomalías del comportamiento inducidas por miedo, las frustraciones o la incapacidad para adaptarse a un entorno desconocido (Pageat, 2000), incluso mejoran las capacidades exploratorias y pueden facilitar el contacto social (Sieghart, 2003).

El efecto sedante se caracteriza por una disminución de la vigilancia, la actividad motora y la desaparición de respuestas adquiridas de aprendizaje, lo que a menudo se considera un efecto secundario en su uso (Charney *et al.*, 2006). Sus actividades sedantes-hipnóticas, se han podido estudiar en animales de experimentación, investigando su conducta exploratoria y la prolongación del tiempo de sueño. Se ha establecido que las benzodiazepinas mejoran la calidad del sueño lo cual es útil en trastornos del sueño en animales (Sieghart, 2003). Aceleran el inicio del sueño, disminuyen los caminares nocturnos, y a menudo aumentan el tiempo total de sueño (Ashton, 1994). Sin embargo, alteran el patrón de sueño normal, pues la duración del sueño de ondas lentas y movimientos oculares rápidos (REM) se reduce considerablemente (Ashton, 1994). En los perros, autores como Pageat (2000) aclaran que el efecto hipnótico de las benzodiazepinas se caracteriza por un acortamiento del tiempo de adormecimiento con una disminución moderada del sueño paradójico. Es decir, su uso por un lado facilita el permanecer dormido, pero aumenta el umbral para despertarse, por lo cual, mejoran la calidad del sueño, pero a expensas del incremento del sueño superficial (Hurlé *et al.*, 2008).

Las benzodiazepinas que tienen semivida prolongada tienen efecto anticonvulsivante por lo cual se requiere que entren rápidamente al cerebro para ejercer su acción. Su eficacia es similar a la de los barbitúricos, pero al tener un índice terapéutico más favorable, su empleo es más seguro (Hurlé *et al.*, 2008). En cuanto a sus propiedades miorrelajantes, se produce relajación de la musculatura esquelética, y dicha acción se ejerce sobre el sistema nervioso central (SNC) facilitando la inhibición presináptica en el tronco encefálico, los ganglios basales y el cerebelo (Hurlé *et al.*, 2008).

Por último, se ha puesto en evidencia el efecto antiinflamatorio periférico de las benzodiazepinas, al corroborar la presencia de receptores para dichas sustancias en la superficie de los macrófagos. La estimulación llevada a cabo por las benzodiazepinas, disminuye la actividad y migración de los macrófagos (Haour *et al.*, 1989) lo que explica probablemente sus efectos periféricos en las alteraciones ansiosas que acompañan la dermatitis por lamido en perros (Pageat, 2000).

En el caso de los perros, las benzodiazepinas tienen una acción rápida y se metabolizan rápidamente. Disminuyen la ansiedad y el estrés sin deteriorar las funciones neurológicas, ni disminuir la actividad general en forma significativa, cuando son administradas en dosis terapéuticas. Las benzodiazepinas están siendo muy usadas en combinación con otros

fármacos de acción más lenta (ATC, ISRS) para obtener un efecto inmediato hasta que el otro sea efectivo (Crowell-Davis *et al.*, 2003; Ibáñez y Ánzola, 2009a). Su eficacia inmediata y discreta hace que sean particularmente útiles para tratar el miedo inducido por estímulos previsibles, los problemas de eliminación, miedos, fobias, ansiedad por separación y pánico (Crowell-Davis y Murray, 2006). También pueden utilizarse en el perro cuando existe ansiedad con insomnio, despertares bruscos con temblores y aullidos, ansiedades permanentes que cursan con granuloma por lamido debido a que permiten detener el lamido y facilitan la cicatrización (Pageat, 2000).

El uso de las benzodiazepinas es controvertido en casos en los que se produce agresión (Crowell-Davis y Murray, 2006). La acción ansiolítica de las benzodiazepinas también podría ser responsable de la actividad antiagresiva de estos fármacos en diversos modelos animales. Se supone que no reducen la agresión per se, pero ayudan cuando la agresión es causada por la ansiedad. Sin embargo, bajo ciertas condiciones, pueden también inducir a la agresión (Müller, 1995).

Cuando se pusieron en el mercado el diazepam y el clordiazepóxido, a principios de los años 60 para su uso en psiquiatría, se consideró que tenían un enorme potencial en el tratamiento de la agresión entre personas, porque algunos estudios en animales de laboratorio ponían de manifiesto que tenían un efecto calmante y de apaciguamiento en animales salvajes (DiMascio, 1973). Sin embargo, este uso potencial inicial no se tornó en algo que fuera consistente o seguro. Los efectos sobre la agresión varían entre especies y entre individuos y dependen del tipo de agresión y del estímulo que la produzca, la benzodiazepina, la dosis, y si se administra como dosis única o repetida durante algunos días (Tornatzky y Miczek, 1995). Si bien las benzodiazepinas disminuyen la agresividad, a veces en ocasiones, puede incrementarla (Crowell-Davis y Murray, 2006; Lader, 2011). Sin embargo, el alivio de la ansiedad puede producir pérdida o disminución de algunas conductas, (Margules y Stein, 1968), pues la ansiedad contribuye al desarrollo y la expresión del comportamiento agresivo, pues las mordeduras de perro a menudo se remontan a inquietud, ansiedad o a una situación de estrés que ocurre justo antes del evento (Beerda *et al.*, 1999).

Autores como Landsberg *et al* (2003) establecen que las benzodiazepinas pueden utilizarse en los casos de agresividad cuando esta se encuentra relacionada con algún componente de miedo o ansiedad, por ejemplo, en los casos de agresividad por miedo. Sin

embargo, señalan que la desinhibición puede dar lugar a un incremento en la agresividad, aunque otros autores citan, que dicho riesgo es válido para cualquier sustancia química que afecte al cerebro (Bruhwylter y Chleide, 1990). Autores como Pageat (2000) concretan, que el efecto desinhibidor de la agresión puede ocurrir esencialmente en trastornos que cursan con alteración en las funciones de la relación social, tal es el caso de la agresiones jerárquicas, territoriales e irritativas, por lo cual desaconseja su utilización en perros que presentan síntomas de sociopatía. Aunque la mayoría de los autores sugieren restringir su uso en pacientes agresivos debido a la posible desinhibición, Overall (1998), señala que en animales silvestres tratados con diazepam se ha observado una disminución en la agresividad y hasta un efecto de doma. Por otro lado, estudios en animales con ansiedad han demostrado que las conductas de comer y beber que están reprimidas por el miedo, aumentan gracias a la administración de las benzodiazepinas, por tanto, esto puede significar que un animal retraído, anoréxico, empiece a comer y se vuelva más activo (Landsberg *et al.*, 2003).

Cabe mencionar, que las benzodiazepinas pueden producir aumento de la conducta afiliativa, en monos Rhesus (*Macaca mulatta*), tras la administración de diazepam o lorazepam, los monos manifiestan un incremento de los actos de acicalamiento social, aumentan las aproximaciones y el contacto entre ellos (Kumar *et al.*, 1999).

2.4.3.2.5. Riesgos de administración

2.4.3.2.5.1. Efectos psicológicos

Las benzodiazepinas comprenden tanto al sistema psicomotor como al cognitivo, reducen la ansiedad e inducen somnolencia, letargo y relajación. Este es un efecto deseado, cuando el medicamento se toma como hipnótico o cuando se desea controlar la ansiedad generalizada o el pánico (Lader, 1999). Sin embargo, este mismo efecto puede producir sedación (Salzman, 1992), aunque en algunos casos pueden ocurrir episodios de euforia. La gravedad de la sedación depende de la dosis, la susceptibilidad individual y también de la benzodiazepina utilizada. Diazepam, por ejemplo, es más sedante que el lorazepam o el oxazepam. Los hipnóticos de acción prolongada son susceptibles de producir efectos sedantes residuales durante gran parte del día siguiente (Lader, 1999). Además, pueden presentar excitación paradójica, incluso pueden llegar a desarrollar procesos de irritabilidad y depresión (Lader, 1999; Crowell- Davis y Murray, 2006).

2.4.3.2.5.2. Efectos Cognitivos

Parece evidente que las benzodiazepinas tienen una acción específica sobre la memoria, pues diversos trabajos citan el vínculo entre su mecanismo de acción ansiolítico y la memorización a medio plazo (Pageat, 2000). En el perro se ha observado dificultad para memorizar o aprender durante la terapia, lo que puede perjudicar el aprendizaje e influir en el resultado de los programas de entrenamiento (Landsberg *et al.*, 2003). A pesar de los posibles efectos amnésicos, diferentes investigaciones se han centrado en la capacidad para aprender cuando se está bajo su influencia, y ponen de manifiesto una gran variabilidad existente entre los individuos cuando se utilizan en procesos de agresión (Crowell- Davis y Murray, 2006).

2.4.3.2.5.3. Efectos psicomotores

Las benzodiazepinas pueden afectar las funciones psicomotrices relacionadas con la velocidad y precisión. Las tareas que requieren atención y concentración pueden ser notablemente alteradas mediante su administración (Charney *et al.*, 2006). Alteración de la marcha y caídas con riesgo de fracturas óseas pueden ser causadas por una sobredosis, lo cual es especialmente peligroso en pacientes mayores (Müller, 1995) y la relajación muscular producida también puede provocar perturbaciones en la respiración (Ashton, 1994). Una serie de estudios han confirmado su miorelajación central (Haefely *et al.*, 1981) al influir sobre las neuronas motoras inhibiendo los reflejos polisinápticos y mejorando la inhibición presináptica a nivel espinal. La ataxia puede ser debida a altas dosis de dicho fármaco, las cuales influyen directamente en los circuitos del cerebelo (Sieghart, 2003).

En perros tras su administración puede presentarse ataxia, temores, espasmos e hiperactividad (Askew, 2005). Sin embargo, autores como Dodman y Shuster (2000) especifican su utilización para la terapia a corto plazo en perros, que presentan situaciones agudas, en las cuales la sedación y la ataxia son menos importantes que la acción de controlar la reacción emocional descontrolada del animal hacia un estímulo o situación.

Una de las mayores desventajas de las benzodiazepinas administradas a largo plazo es que producen dependencia conductual y fisiológica (Curran *et al.*, 2003). Su interrupción abrupta puede precipitar la abstinencia, incluso se puede producir un efecto rebote, para lo cual es recomendable la disminución gradual, dependiendo de la respuesta del paciente (Hart

et al., 2009; Mondragón, 2010). Sin embargo, experimentos realizados en animales concluyen que las benzodiazepinas utilizadas tienen un bajo potencial para inducir adicción. Experiencias clínicas han respaldado dicho hallazgo indicando que pacientes que han tomado benzodiazepinas, permanecen durante años con las mismas dosis sin necesidad de incrementarla (Sieghart, 2003). Sin embargo, diferentes autores citan que una cierta forma de dependencia física se puede desarrollar si después de su uso a largo plazo, son retiradas abruptamente. En los animales, esto puede conducir a un aumento de la actividad motora, temblor, aumento del tono muscular y convulsiones (Woods *et al.*, 1992). Estudios realizados para evaluar el síndrome de abstinencia en perros tratados con diazepam, nordiazepam, flunitrazepam, alprazolam, oxazepam, halazepam y lorazepam, demuestran que el oxazepam y el lorazepam producen dependencia física menos intensa que la que producen otras benzodiazepinas (Martin *et al.*, 1990).

Por otro lado, una gran variedad de estudios han demostrado la posibilidad que tienen tanto humanos (Ashton, 1994) como animales (File, 1984) de desarrollar tolerancia después del tratamiento crónico con benzodiazepinas. Autores como Dodman y Shuster (2000) aclaran que cuando un paciente es tratado con benzodiazepinas durante períodos prolongados de tiempo, es probable que haya que ir incrementando poco a poco las dosis necesarias para conseguir el mismo efecto sobre la conducta (Curran *et al.*, 2003). Es más probable que dicha tolerancia sea mayor en los procesos donde se utilizan por sus características sedantes-hipnóticas que por sus acciones ansiolíticas (Sieghart, 2003). Incluso existen reportes donde la tolerancia se desarrolla rápidamente con tan solo unos días de su uso (Ashton, 1994). Sin embargo, el mecanismo por el cual se desarrolla la tolerancia no está aún bien establecido, en parte debido a que en los animales la dependencia depende no sólo del medicamento que se use, sino también de la intensidad, la duración del tratamiento, el momento de análisis post-tratamiento y el área del cerebro que se evalué (Sieghart, 1995). En general se ha supuesto que la tolerancia es causada por una disminución en la función o densidad de los receptores de estas sustancias (Sieghart, 2003).

Su uso está contraindicado en animales geriátricos o con afecciones hepáticas, especialmente, aquellos que se metabolizan por oxidación (alprazolam y diazepam). En gatos la utilización de diazepam ha producido necrosis hepática (Crowell-Davis y Murray, 2006) y en enfermedades renales es necesario reducir la dosis hasta en un 75%, igual que en

casos de glaucoma, ya que existe riesgo de incrementar la presión intraocular por sus efectos anticolinérgicos (Mondragón *et al.*, 2010).

Los estudios acerca de la seguridad del consumo de benzodiazepinas durante la gestación han sido poco claros. Estos medicamentos al igual que otras medicinas hipnótico-sedantes pueden causar la muerte de neuronas por apoptosis. Su toxicidad prenatal está probablemente causada por sus efectos en los sistemas de neurotransmisores, membranas celulares y en la síntesis proteica (Karkos, 1991). Sin embargo, en general su toxicidad es bastante baja, debido a que los valores de la dosis letal en los animales de laboratorio es bastante alta (rangos mayores de 100mg/kg) (Haefely *et al.*, 1981). Experiencias clínicas en los últimos años han demostrado que la intoxicación es bastante rara y en la mayoría de los casos se debe a factores secundarios, tales como la combinación con otros fármacos (Woods *et al.*, 1992) o a la utilización de dosis extremadamente altas (Haefely *et al.*, 1981), aunque actualmente dicho mecanismo es desconocido (Sieghart, 2003).

2.4.3.3. Utilización del clorazepato dipotásico en el tratamiento de problemas conductuales

El clorazepato dipotásico (7-cloro-2,3-dihidro-2-oxo-5-fenil-1H-1,4-benzodiazepina-3-carboxilato potásico) es una benzodiazepina de acción intermedia-larga que posee las mismas características farmacológicas de todas las benzodiazepinas (Bejarano *et al.*, 2008). Se desarrolló a mediados de la década de 1960 (Amano *et al.*, 1999) como un fármaco eficaz y seguro ya que su mayor ventaja es producir una sedación rápida y duradera (Kiejna *et al.*, 1997).

2.4.3.3.1. *Farmacocinética*

Esta benzodiazepina se descarboxila rápidamente, debido a la acidez del aparato digestivo y es transformada en nordiazepam, también llamado desmetildiazepam, el cual es uno de sus metabolitos activos y cuyos niveles plasmáticos son proporcionales a la dosis de clorazepato (Crowell-Davis y Murray, 2006). Posteriormente el nordiazepam se metaboliza por hidroxilación a oxazepam (3-hidroxi-nordiazepam) para su posterior conjugación. Su metabolismo se realiza rápidamente en el hígado y su excreción se realiza por orina, aunque estudios realizados en humanos muestran que puede eliminarse en menor proporción por las heces (Abbot Laboratories, 2004).

Los perros metabolizan el clorazepato más rápidamente que los seres humanos. Mientras que en humanos la vida media de eliminación del nordiazepam es de $40,8 \pm 10,0$ horas (Wilensky *et al.*, 1978) o superior a 80 horas (Boxenbaum, 1980), en perros es de nueve horas aproximadamente (Brown y Forrester, 1991) y según recomendaciones de la mayoría de los autores, el tratamiento debe ser iniciado con la dosis más baja (Crowell-Davis y Murray, 2006).

2.4.3.3.2. Efectos en animales

Se ha empleado en perros para casos de ansiedad, miedos, fobias, agresión territorial y para problemas de socialización (Landsberg *et al.*, 2003; Neilson, 2006). Puede ser utilizado como un relajante muscular, anticonvulsivo y como estimulante del apetito. Sin embargo, una de sus mayores desventajas es que tiene probabilidad de sedación, por lo cual puede interferir con los programas de entrenamiento (Overall, 2001; Ibáñez y Ánzola, 2009), pues nadie quiere un perro sedado o descoordinado, y algunas benzodiazepinas (diazepam, clorazepato) tienen más probabilidades de sedar a los perros que otras (alprazolam) (Lelong-Boulouard, 2006).

Por otro lado, en perros se usa cuando se requiere un efecto de larga duración, como por ejemplo en los casos de ansiedad por separación, en los que un inhibidor de la recaptación de serotonina no tiene tiempo de hacer efecto y los ansiolíticos de duración corta no son suficientes para mantener al perro calmado durante todo el día, mientras los dueños se encuentran fuera (Crowell-Davis y Murray, 2006).

Con respecto a los procesos de memoria, en estudios realizados por Lelong-Boulouard (2006) el clorazepato no altera la memoria de trabajo a corto plazo ni interfiere en la consolidación de la memoria a largo plazo, aunque sí disminuye la adquisición y mejora de las conductas de evitación pasiva de los animales.

2.4.3.3.3. Precauciones y efectos secundarios

Como todas las benzodiazepinas puede producir sedación, ataxia, relajación muscular, incremento del apetito, excitación paradójica e incremento de la docilidad, entre otros. (Crowell-Davis y Murray, 2006). Estudios realizados por Forrester *et al* (1990) reportan que después de la administración de dosis múltiples de clorazepato se produce un descenso significativo de los valores séricos de albúmina, proteínas totales y calcio, mientras que por

otro lado, se incrementan los valores de nitrógeno ureico y glucosa. El número total de leucocitos, neutrófilos, linfocitos y eosinófilos al igual que los niveles de fosfatasa alcalina aumentan, pero los niveles de alanina transaminasa (ALT) disminuyen. A pesar de todos estos cambios, durante dicho estudio los valores permanecen en intervalos normales después de 21 días de administración al utilizar dosis de 2mg/kg dos veces al día.

Como todas las benzodiazepinas su administración continua puede producir dependencia. Por ejemplo los perros y los conejos pueden presentar convulsiones cuando se les suprime el tratamiento (Abbott Laboratories, 2004) de ahí la recomendación de realizar la supresión del tratamiento gradualmente (Crowell-Davis y Murray, 2006).

Finalmente cabe mencionar que el clorazepato es sustancialmente más caro que otras benzodiazepinas. Por otro lado, en casos donde el cliente está por cortos períodos de tiempo fuera de casa y puede suministrar una segunda dosis, es recomendable la utilización de benzodiazepinas de corta duración. Sin embargo, si el cliente está ausente por largos períodos de tiempo sin posibilidad de suministrar una segunda dosis, el clorazepato puede ser una buena elección aunque su precio sea más elevado (Crowell-Davis y Murray, 2006).

2.4.3.4. Utilización del alprazolam en el tratamiento de problemas conductuales

El alprazolam (8-cloro-1-metil-6-fenil-4H-s-triazolo (4,3-) (1,4) benzodiazepina) es una benzodiazepina de acción media-corta la cual ha sido prescrita en los trastornos de ansiedad y ataques de pánico tanto en humanos como en perros y gatos (Verster y Volkerts, 2004). El mecanismo de acción exacto es desconocido, sin embargo se cree que es similar al de todas las benzodiazepinas. Atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica lo que conlleva a una rápida desaceleración de la actividad general cerebral (Verster y Volkerts, 2004).

Aunque diazepam y clorazepato se han utilizado comúnmente para tratar la reactividad y miedo, el medicamento de elección en la mayoría de los perros es el alprazolam, en parte debido a que no utiliza la vía metabólica N-desmetildiazepam, lo cual hace que no posea actividades sedativas, además de evitar en menor medida la tolerancia fisiológica (Overall, 2011).

2.4.3.4.1. Farmacocinética

El alprazolam se absorbe rápidamente tras su administración oral. Sus dos metabolitos principales son 7-hidroxi-alprazolam y una benzofenona. La primera molécula posee aproximadamente la mitad de su actividad farmacológica, mientras que la segunda es inactiva. El metabolismo se inicia por una hidroxilación catalizada mediante el citocromo P-450 (Crowell-Davis y Murray, 2006). En estudios realizados *in vitro*, se ha podido comprobar que su unión a proteínas séricas se presenta en un 80% aproximadamente (Pfizer, 2005), sin embargo, su absorción puede verse alterada según el momento del día, el consumo y tipo de alimentos (Pharmacia y Upjohn, 2001). Por ende, dada la fisiología digestiva y sobre todo los diferentes tipos de dieta de los pacientes veterinarios es muy probable que las diferencias con respecto a los datos en los humanos sean importantes (Crowell-Davis y Murray, 2006).

2.4.3.4.2. Efectos en animales

En los animales de compañía, el alprazolam ha sido utilizado con gran éxito en el tratamiento de algunas formas de miedo o en la agresividad relacionada con miedo, incluso en casos de ansiedad nocturna. Gracias a su corta acción y alta potencia, es el fármaco de elección en estados agudos de miedo, por ejemplo visitas al veterinario, viajes en coche, presencia de extraños, entre otros (Landsberg *et al.*, 2003). Por otro lado, la eficacia del alprazolam está bien establecida en el tratamiento a corto y largo plazo de los trastornos de pánico (Schweizer *et al.*, 1993), resultando útil en casos de fobia a ruidos (Overall, 1997).

Es una de las moléculas más estudiada del grupo de las benzodiazepinas, se le atribuye que gracias a su rápida acción, se reduzcan considerablemente las crisis de pánico, lo cual puede ocurrir desde la primera semana de tratamiento, y dichas mejorías se pueden extender a lo largo de seis u ocho semanas, gracias a su acumulación. Sin embargo, debido a su corta vida media, los pacientes necesitarán realizar varias tomas al día (Boussard *et al.*, 2002).

Experimentos realizados en ratones sometidos a situaciones conflictivas que producen estrés, mostraron que el alprazolam suministrado a dosis de 0,1 -1 mg/kg disminuyó en un 100% las conductas ansiosas, pues a los catorce días de retirado alprazolam, los ratones volvieron a presentar signos de ansiedad. Sin embargo, en dicho experimento tanto diazepam como alprazolam interfirieron en las conductas cognitivas (Kulkarni y Sharma, 1993), lo

cual no se correlaciona con lo citado por Overall (2011), donde se habla acerca de las bondades no sedativas de dicha benzodiazepina.

Además de estas acciones, posee propiedades anti-depresivas que la hacen una benzodiazepina atípica y por lo cual puede ser usada en la depresión endógena (Kulkarni y Sharma, 1993). En estudios realizados por Van Marwijk *et al* (2012) parece que reduce los síntomas depresivos de manera más eficaz que el placebo resultando ser tan eficiente como los antidepresivos tricíclicos. Sin embargo, dicho estudio solo abordó resultados a corto plazo, lo que puede limitar la confianza en dichos hallazgos. En el mismo estudio no hubo indicios de existir el síndrome de retirada cuando se suspendió el tratamiento, pero estos resultados deben ser interpretados con cautela, dadas las propiedades de dependencia de las benzodiazepinas (Crowell-Davis y Murray, 2006) ya que en otros estudios, al administrar alprazolam a perros en dosis de 48 mg/ kg/ día vía oral, 4 veces al día, se produjo dependencia física, la cual se caracterizó por la presencia de contracciones tónico-clónicas (Sloan *et al.*, 1990). No obstante, algunos autores indican que dichos efectos pueden depender de características individuales del animal y la dosis suministrada (Martin *et al.*, 1990).

2.4.3.4.3. Precauciones y efectos secundarios

El alprazolam provoca los típicos efectos secundarios de las benzodiazepinas (ataxia, relajación muscular, aumento del apetito y excitación paradójica) (Crowell-Davis y Murray, 2006), sin embargo, el medicamento tiene un amplio margen de seguridad, pues su dosis letal (LD₅₀) es muy alta (331 hasta 2.171mg /kg). Tras la ingestión accidental de alprazolam en perros, los signos clínicos son similares a los reportados en personas los cuales incluyen ataxia, desorientación, depresión, hiperactividad, trastornos gastrointestinales, debilidad, temblores, vocalización, aumento de la frecuencia cardiaca y respiratoria, hipotermia, y aumento de la salivación. Sin embargo, a pesar de las altas dosis ingeridas, la muerte no se informó en ninguno de los animales, lo que demuestra la seguridad de este fármaco (Wisner, 2002).

Esta benzodiazepina puede aumentar el riesgo de anomalías congénitas cuando se utiliza durante el primer trimestre de gestación, por lo tanto se debe tener precaución en hembras gestantes. Igualmente, su farmacocinética sugiere que dicha medicación pasa fácilmente

hacia la leche (Verster y Volkerts, 2004), lo que puede hacer que la cría la absorba al momento de mamar (Wong, 2015).

A diferencia de los seres humanos, no se han descrito casos de fallo hepático ni en gatos ni en otros animales que han recibido alprazolam para problemas de conducta. No obstante, a pesar de ser un proceso raro se debe considerar el fallo hepático como una posible secuela de la medicación (Crowell-Davis y Murray, 2006). Por último es preciso mencionar que al administrar dosis continuas crecientes de esta benzodiacepina en perros, éstos pueden manifestar pérdida de peso al cabo de 18- 28 días (Martin, *et al.*, 1990).

2.4.3.5. Utilización de inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina para el tratamiento de problemas conductuales

La serotonina fue identificada químicamente en la década de 1940. A partir de su descubrimiento en el sistema nervioso de los mamíferos, se produjeron profundas investigaciones a nivel neuroquímico y farmacológico, las cuales permitieron conocer la serotonina como neurotransmisor central y con ello desarrollar un gran número de fármacos que bloqueen la recaptación de 5-hidroxitriptófano (5-HT) el cual es el precursor de la serotonina cerebral. Dichos fármacos logran el incremento de la neurotransmisión serotoninérgica, al conseguir que las moléculas de serotonina actúen durante un período de tiempo más largo (Crowell-Davis y Murray, 2006; Hart *et al.*, 2009).

Los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) se encuentran dentro de los fármacos que más se prescriben en psiquiatría (Kroeze *et al.*, 2012). Fueron sintetizados después de los antidepresivos tricíclicos con el fin de lograr medicamentos más selectivos, con mayor especificidad sobre el sistema serotoninérgico y con la intención de generar un buen efecto terapéutico, pero sin tantos efectos secundarios (Rojttenberg, 2001). Aunque en un primer momento los ISRS se comercializaron para el tratamiento de la depresión (Stork, 2006) actualmente también son efectivos para el tratamiento de problemas de agresividad, trastornos compulsivos, y estados relacionados con miedo y ansiedad (den Boer *et al.*, 1995; Dodman y Shuster, 2000). Estos antidepresivos de tercera generación se muestran promisorios en veterinaria, pues actualmente se utilizan en el tratamiento y control del granuloma por lamido, el marcaje felino y sobre todo para los casos de ansiedad por separación en perros (Fitzgerald y Bronstein, 2013). Sin embargo, autores como Dodman y Shuster (2000) especifican que quizá los ISRS son más apropiados para el tratamiento de

conductas agresivas debido a su alta selectividad por los sistemas serotoninérgicos, lo que a su vez se relaciona con menor cantidad de efectos colaterales. Además se ha visto que en casos de agresividad por competición con algún miembro de la familia por un recurso, dichos agentes pueden ayudar ya que reducen el dominio social y aumentan el comportamiento asociativo (Larson y Summers, 2001).

Dentro de los medicamentos que componen este grupo están: citalopram, fluvoxamina, paroxetina, sertralina y uno de los más conocidos, fluoxetina, un tipo de antidepresivo dicíclico (Travé y Reneses, 2002). Una de sus mayores ventajas es la sencillez de su dosificación, además de ser fármacos seguros y con pocos efectos secundarios (Travé y Reneses, 2002; Fitzgerald y Bronstein, 2013).

2.4.3.5.1. Mecanismo de acción

Los ISRS son un grupo diverso de agentes que comparten químicamente la capacidad de inhibir la captación presináptica de la serotonina en el SNC (Yilmaz *et al.*, 2010). La manipulación de la serotonina y la norepinefrina tiene un papel central en el tratamiento de los trastornos ansiosos y de depresión. Sin embargo, la etiología exacta y el mecanismo por el cual aumenta la neurotransmisión de la serotonina y la norepinefrina, las cuales modulan el estado del ánimo, sigue siendo poco claro (Fitzgerald y Bronstein, 2013).

Los ISRS actúan específicamente sobre las concentraciones de serotonina sinápticas mediante el bloqueo de la recaptación de su presinapsis y en el aumento de los niveles de esta amina biógena en la membrana presináptica (Fitzgerald y Bronstein, 2013). Su administración aguda conlleva a un aumento de serotonina debido al bloqueo de diferentes moléculas transportadoras (Stahl, 2009), al igual que se produce un bloqueo de la bomba de recaptación presináptica lo que conlleva a una gran acumulación de serotonina en la sinapsis, y por ende a mayores niveles del neurotransmisor en el área de los cuerpos celulares del rafe mesencefálico (Del Río y Flórez, 2008).

Los receptores 5-HT_{1A} juegan un papel importante en la autorregulación del sistema serotoninérgico. La activación de estos receptores serotoninérgicos conduce a la apertura de los canales de potasio en la membrana celular y por consiguiente conduce a la hiperpolarización de la célula, lo que resulta en una reducción en la velocidad de descarga (Sprouse y Aghajanian, 1987). Dado el notable papel de la descarga neuronal en la actividad

general de todo el sistema serotoninérgico, la reducción de la tasa de liberación provocada por los agonistas 5-HT_{1A} se traduce inmediatamente en una reducción generalizada de la liberación de 5-HT en la mayoría de las áreas del cerebro (Artigas, 2013).

Los ISRS se absorben bien por vía oral, se fijan en gran proporción a proteínas, y sufren metabolización a nivel hepático (Sioris *et al.*, 2011). Tienen diferentes patrones de eliminación, sin embargo, la mayoría son excretados en la orina aunque algunos pueden excretarse en la bilis de los perros (Fitzgerald y Bronstein, 2013). Por otro lado, los miembros del grupo de los ISRS presentan importantes diferencias en su estructura química, lo cual determina las variaciones en los parámetros farmacocinéticos, hecho que debe considerarse en el momento de la elección de uno u otro (Vallejo, 2011).

2.4.3.5.2. Efectos colaterales

Los efectos colaterales de los ISRS se pueden predecir a partir de sus propiedades farmacológicas. Sin embargo, los ISRS tales como la fluoxetina tienen una débil afinidad puesto que se unen a múltiples neuroreceptores y debido a ello están virtualmente desprovistos de efectos colaterales colinérgicos y cardiovasculares (Sommi *et al.*, 1987). Aunque las disforias, el vértigo y el insomnio pueden presentarse con frecuencia en los humanos, en los perros los principales efectos colaterales incluyen sedación leve e hiporexia (Dodman *et al.*, 1996) y en algunos casos pueden existir efectos colaterales neurológicos de tipo convulsivo (Dodman y Shuster, 2000). Por otro lado, puede existir irritación gastrointestinal, náuseas, dispepsia, diarrea, irritación flatulencia, anorexia. Aunque generalmente dichos signos suelen atenuarse con el paso del tiempo (Vallejo, 2011).

A nivel neuropsiquiátrico puede haber inquietud, ansiedad, irritabilidad, temblor, agitación, insomnio y somnolencia diurna (Vallejo, 2011). Los efectos secundarios mencionados anteriormente pueden evitarse si se empieza el tratamiento con una dosis baja durante una semana, y después se va incrementando la dosis progresivamente (Mills y Sherman, 2006).

En casos de intoxicación actualmente no existe ninguna prueba clínica disponible para confirmar la toxicosis, pues su diagnóstico, debe realizarse mediante la observación de los signos clínicos y la respuesta a la terapia. En casos de sobredosificación existe una cantidad excesiva de serotonina en el sistema nervioso central, lo que hace que en los perros se

presenten signos como náuseas, vómitos, midriasis, nistagmos, inclinación de la cabeza, bradicardia, sialorrea, hipertermia y comportamiento agresivo, incluso se puede llegar a ocasionar un síndrome serotoninérgico, manifestado mediante ataxia, temblores, rigidez muscular, hipertermia, diarrea y convulsiones (Fitzgerald y Bronstein, 2013). Dichos signos son dependientes de la dosis y suelen aparecer dentro de la primera hora de administración (Lewis *et al.*, 2007). A pesar de ello, los ISRS siguen siendo medicaciones relativamente seguras (Dodman y Shuster, 2000) y son más usadas que otros antidepresivos, ya que generalmente el pronóstico en los animales que reciben tratamiento es bueno (Fitzgerald y Bronstein, 2013).

Como precaución general nunca deben administrarse con inhibidores de la monoaminoxidasa (MAO), debido a que dicha asociación puede producir síndrome serotoninérgico. Igualmente pueden aparecer efectos secundarios graves al administrarlos junto con triptófano, cimetidina y barbitúricos (Vallejo, 2011).

2.4.3.5.3. *Clorhidrato de Fluoxetina*

Entre los bloqueantes específicos de la recaptación de 5-HT, la fluoxetina ((+)-N-metil-3-fenil-3-(3-trifluorop-tolil oxipropilamina) es uno de los más comúnmente utilizados en animales de compañía (Bowen y Heat, 2007). Es un potente inhibidor de la recaptación de serotonina con un débil efecto inhibidor de la recaptación de norepinefrina (Crowell-Davis y Murray, 2006). Actúa mediante la inhibición de la recaptación de la 5-HT, bloqueando los canales de captación presináptica. Debido a su especificidad, no reacciona con los receptores muscarínicos y por lo tanto carece de los efectos colaterales anticolinérgicos que caracteriza a los antidepresivos tricíclicos, no causa sedación o hipotensión, dado que no interactúa con los receptores adrenérgicos α_1 , además al no ser un antagonista del receptor histamínico H_1 no causa somnolencia (Dodman y Shuster, 2000).

2.4.3.5.3.1. Farmacocinética

La fluoxetina se absorbe bien tras su administración oral, aunque la presencia de alimentos puede retrasar la absorción una o dos horas. El pico de concentración plasmática tras la administración de una dosis única se produce al cabo de 6 u 8 horas, y los niveles plasmáticos uniformes se alcanzan después de 4-5 semanas, mientras que el tiempo de vida

media de eliminación es de 1 a 6 días. Por otro lado, la biodisponibilidad de la fluoxetina es del 72% (Dodman y Shuster, 2000).

2.4.3.5.3.2. Efectos en animales

El clorhidrato de fluoxetina se ha utilizado en perros para el tratamiento de trastornos compulsivos (Rapoport *et al.*, 1992) ansiedad por separación, miedos, ansiedad generalizada y agresividad por dominancia (Seksell y Lindeman, 2001). En gatos ha sido útil para tratar casos de eliminación inapropiada refractaria al tratamiento con otros agentes farmacológicos (Dodman *et al.*, 1996).

En el tratamiento de la dermatitis acral por lamido en los perros, la fluoxetina administrada a dosis de 1mg/kg produjo una reducción del lamido aproximadamente en un 40%, mostrándose más efectivo que la sertralina (20%) (Rapoport *et al.*, 1992). Igualmente, ha demostrado ser de utilidad en la reducción de los signos de las conductas de agresividad dirigidas hacia los propietarios después de 3 semanas de tratamiento (Dodman *et al.*, 1996). Fluoxetina es útil en el tratamiento de la agresividad intraespecífica, combinada con un programa de modificación de conducta diseñado para enseñar al perro a relajarse (Overall, 2001). La eficacia de esta combinación también ha sido reportada por Seksell y Lindeman (2001) para el tratamiento de la fobia a ruidos.

En otras especies, fluoxetina ha resultado ser útil en el tratamiento de la agresividad por dominancia, por ejemplo en ratas, no sólo atenúa los síntomas vegetativos de la depresión, sino que también controla la irritabilidad crónica y las conductas hostiles. Al igual que se ha comprobado que suprime conductas agresivas en especies de laboratorio (hámster dorado) y en lagartos (Deckel, 1996; Ferris *et al.*, 1997).

Por otro lado, sabiendo que el estrés juega un papel potencial en la aparición y exacerbación de la depresión, y conociendo su implicación en la fisiopatología de los trastornos del estado del ánimo y de la ansiedad, se está estudiado el papel modulador de la fluoxetina en la atenuación del estrés oxidativo producido por situaciones estresantes (Zafir y Banu, 2007). Diferentes estudios señalan que la fluoxetina podría tener un efecto antioxidante cuando se utiliza en tratamientos crónicos, pues podría proteger al organismo frente a los efectos adversos que producen las situaciones estresantes (Ayelli *et al.*, 2002). Algunos estudios incluso hablan del posible papel neuroprotector que desempeñan los ISRS,

pues fluoxetina inhibe la producción de proteínas carbonilo presentes en animales estresados, lo que indica que no sólo previene la cascada del daño oxidativo que comprende la peroxidación lipídica, sino que también actúa en los eventos oxidativos tempranos reduciendo significativamente la oxidación proteica (Zafir y Banu, 2007).

2.4.3.5.3.3. Precauciones y efectos secundarios

Un pequeño número de pacientes tratados con fluoxetina pueden presentar ansiedad, cambios del apetito, vómitos, diarrea, cambios en la frecuencia urinaria, insomnio, excitación, hiponatremia, y descenso de la motivación sexual. Por otro lado, fluoxetina puede modificar el metabolismo de la glucosa, pudiendo presentarse hiperglucemia durante el tratamiento. Debido a su fuerte unión a proteínas plasmáticas, el tratamiento con agentes concomitantes que también presenten alta unión a proteínas, puede producir una elevación de los niveles séricos de uno o de ambos fármacos, con la posible presentación de efectos adversos (Crowell- Davis y Murray, 2006).

La dosis máxima no letal de fluoxetina en gatos y perros es de 50 mg/kg y de 100 mg/kg respectivamente. Esta es de casi 50 veces la dosis clínica usual que se administra diariamente (McTavish y Benfield, 1990). Sin embargo, tras su administración pueden aparecer efectos secundarios.

En algunos perros tras su administración se han encontrado molestias gastrointestinales y signos de agitación (Simpson *et al.*, 2007). Efectos hematológicos con sangrado espontáneo y hemorragia pueden presentarse, sin embargo, dichos signos mejoran tras suspender la medicación (Yaryura *et al.*, 1991). En perros signos de agitación, hipersensibilidad y ladridos intempestivos pueden aparecer al inicio de la terapia. Sin embargo, su desaparición después de la tercera semana de tratamiento, podría sugerir que se tratan de alteraciones inducidas por el aumento de la concentración sináptica de los neurotransmisores, y a la elevación anormal del número de receptores (Pageat, 2000). Por otro lado, no se han observado efectos mutagénicos tras su administración, aunque ratas medicadas con fluoxetina durante la gestación, presentaron mayores índices de mortalidad postparto de sus crías (Crowell- Davis y Murray, 2006). En ovejas su administración hace disminuir de forma transitoria el flujo sanguíneo de la arteria uterina, así como el oxígeno y el pH fetal. Es por ello que no se debe administrar en hembras gestantes ni lactantes (Morrison *et al.*, 2002).

El tratamiento con fluoxetina se debe reducir paulatinamente a velocidades que no excedan el 25% de la dosis de mantenimiento por semana. No obstante, a veces se producen recaídas por lo que, en estos casos, se debe reanudar el tratamiento a las dosis más bajas eficaces y mantenerlo durante uno o tres meses más.

2.4.4. Uso de terapias complementarias en los trastornos de ansiedad y agresividad.

Oligoelementos

2.4.4.1. Generalidades

Un oligoelemento es un factor mineral presente en el cuerpo en proporciones generalmente menores de 1mg/kg. El concepto “*elemento traza (oligoelemento)*” fue utilizado por primera vez en 1885 por Gabriel Bertrand, quien afirmó más tarde que los oligoelementos son vitales para todas las células vivas aún cuando se requieren en pequeñas cantidades. Algunos son esenciales para el organismo (cromo, cobre, hierro, flúor, yodo, selenio, zinc). Sin embargo, el organismo no puede sintetizarlos y por lo tanto deben ser suministrados en la dieta. Su deficiencia provoca trastornos funcionales, por lo cual se recomienda su suplementación en dosis fisiológicas (Riché, 1996; Berthélémy, 2008a). Existen elementos traza que no son esenciales para el organismo (aluminio, plata, bismuto, oro, manganeso, níquel y litio), sin embargo, estos elementos también poseen acciones fisiológicas importantes, y en algunos de ellos se han estudiado sus propiedades farmacológicas cuando son administrados en dosis ponderadas (Berthélémy, 2008).

A pesar de que la presencia de los oligoelementos es mínima, comparada con la de los otros elementos químicos, su importancia biológica, es tan alta que se puede decir que el organismo no puede realizar sus ciclos vitales en ausencia de ellos y que además poseen una especificidad en sus funciones, lo que implica que uno no puede ser sustituido por otro. Son por tanto los oligoelementos, elementos que, a pesar de estar presentes en una escasa cantidad, están relacionados con casi todas las funciones vitales. Su ausencia es incompatible con la vida y su carencia o alteración se acompaña de numerosos trastornos (Mejías, 2007).

Los oligoelementos actualmente son utilizados principalmente para prevenir y compensar algún déficit o para lograr un efecto terapéutico. Estos se requieren y están presentes en las estructuras celulares y tisulares. Por ejemplo el calcio, predomina en el tejido óseo, el azufre en los cartílagos y el cobre es necesario para la síntesis de tejido conectivo. Sin embargo,

también están presentes a nivel de las estructuras moleculares, como en el caso del hierro, el cual compone la hemoglobina. El yodo es fundamental para la tiroides, el cobalto para la síntesis de la vitamina B₁₂, el zinc actúa como cofactor inmunoestimulante (Berthélémy, 2008) además de regular la ingesta alimenticia actuando sobre el hipotálamo, y puede afectar las concentraciones de varios neurotransmisores y aminoácidos que participan en el metabolismo de los carbohidratos (Pombo *et al.*, 2001). Por otro lado, elementos como el litio participan en el metabolismo y flujo de iones transmembrana, al comportarse como un inhibidor de los canales de sodio, lo que conlleva al bloqueo neuromuscular para que posteriormente el magnesio se encargue de regular la entrada de calcio a la célula (Berthélémy, 2008).

La clasificación de oligoelementos más reciente aceptada por la comunidad científica (en base a estudios en humanos) es la estudiada en las investigaciones de Escanero *et al* (2013) (Tabla 6).

Tabla 6. Clasificación de los oligoelementos.

Tipo	Oligoelemento	Efecto
Con funciones esenciales	Co, Cr, Cu, Mn, Mo, F, Ni, Se, I, Zn	Su carencia provoca “Enfermedades carenciales” las cuales, son causantes de alteraciones en el crecimiento y en el estado de salud
Con función esencial sospechada, pero con mecanismos de acción desconocidos	Ar, B, Br, Li, Sn, V	Tienen esencialidad probada pero se desconoce su mecanismo de acción
Elementos traza tóxicos	Al, Be, Cd, Hg, Nb, Pb, Re, Te, Ti, Tl, U, W	Presentan efectos tóxicos para el organismo

Símbolo de los elementos químicos considerados “elementos traza ” Co: Cobalto; Cr: Cromo; Cu: Cobre; Mn: Manganeso; Mo: Molibdeno; F: Flúor; Ni: Níquel; Se: Selenio; I: Yodo; Zn: zinc; As: Arsénico; B: Boro; Br: Bromo; Li: Litio; Sn: Estaño; V: Vanadio; Al: Aluminio; Be: Berilio; Cd: Cadmio; Hg: Mercurio; Nb: Niobio; Pb: Plomo; Re: Renio; Te: Teluro; Ti: Titanio; Tl: Talio; U: Uranio; W: Wolframio.

Modificado de Martínez- Espinosa, 2014.

Los elementos traza están involucrados en la asimilación y metabolismo de los alimentos, la renovación celular, las reacciones inflamatorias e inmunes y en la lucha contra el estrés oxidativo (Rayman, 2012). Estudios realizados en niños, evidencian que deficiencias en ciertos oligoelementos pueden conllevar a trastornos en el comportamiento (Grantham-McGregor y Ani, 1999).

La carencia de uno o varios oligoelementos se puede explicar por el concepto de ametalosis, acuñado por Meunier (1970), el cual la describió, como una carencia local o general, momentánea o persistente, continua o intermitente de iones metálicos necesarios para el desarrollo de las reacciones metabólicas que no pueden efectuarse de manera fisiológica sin su participación. De esta forma, la carencia del oligoelemento correspondiente va a producir una disfunción que sólo será reparada si se administra el elemento carente; de no hacerlo, el desequilibrio metabólico surgido provocará una enfermedad funcional, que evolucionará posteriormente a una enfermedad lesional de más difícil tratamiento (Mejías, 2007).

Muchos oligoelementos son necesarios para la óptima función del sistema nervioso central (SNC), ellos participan en la función cerebral actuando como catalizadores, segundos mensajeros o reguladores de la expresión génica, además de ser cofactores esenciales para la función de las proteínas y necesarios para la activación y estabilización de las enzimas y los factores de transcripción. Claramente su deficiencia o exceso puede dar lugar a un mal funcionamiento del SNC (Popescu *et al.*, 2007).

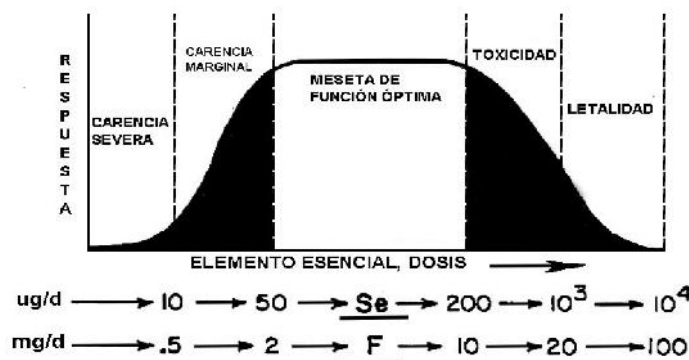
Estudios de la década de 1920 en adelante, demostraron la mejoría de los síntomas en los trastornos psiquiátricos gracias al tratamiento con nutrientes (Kaplan y Leung, 2011). Algunas vitaminas del complejo B y minerales como el magnesio ayudaron a la estabilidad del estado del ánimo (Heiden *et al.*, 1999). Actualmente existen pruebas de su utilización para la salud mental, pues los micronutrientes han demostrado su utilidad en el trastorno obsesivo-compulsivo (Rucklidge, 2009) déficit de atención e hiperactividad (Rucklidge *et al.*, 2011), irritabilidad-agresividad (Gesch *et al.*, 2002) y en los trastornos de ansiedad y del estado de ánimo (Kaplan *et al.*, 2002). Estudios en ratas han demostrado como los micronutrientes y antioxidantes protegen las células neuronales de las neurotoxinas y del efecto oxidativo retrasando la senectud de los fibroblastos (Liu *et al.*, 2002).

2.4.4.2. Efectos secundarios y contraindicaciones

Así como los oligoelementos presentan grandes beneficios para el organismo algunos de ellos poseen propiedades tóxicas o perjudiciales, por ejemplo el cadmio (Cd) y el mercurio (Hg), han demostrado ser dañinos en concentraciones relativamente bajas. Sin embargo, la mayoría de los elementos traza pueden ser potencialmente tóxicos si se ingieren o se inhalan en cantidades muy elevadas durante largos períodos de tiempo (Mertz, 1981).

En la figura 3 se presenta la relación dosis-respuesta en forma de una curva. La primera curva muestra un efecto cada vez mayor con el aumento de la ingesta del elemento traza hasta alcanzar una meseta, que expresa la acción biológica del elemento, la suplementación óptima y la función normal. El ancho de la meseta está determinado por la capacidad homeostática del individuo. Con un nuevo ingreso, se entra en una fase de irritación y de estimulación de alguna función, expresando el metal su acción farmacológica. En esta fase, el elemento actúa como medicamento. A dosis más elevadas aparecen signos de toxicidad, expresando su acción toxicológica lo que puede conducir a la muerte. Es así como posteriormente, Venchikov (1974), con base en numerosos experimentos realizados con varios tejidos y especies animales, perfeccionó el concepto, al establecer tres zonas de acción de los oligoelementos, denominadas (i) zona de acción biológica, (ii) zona inactiva, y (iii) zona de acción fármaco-toxicológica. Los ingresos, o los niveles de las dosis, en que estas distintas fases de acción se ponen de manifiesto, y el ancho óptimo de la meseta, varían considerablemente entre los elementos traza y pueden estar marcadamente afectadas por la medida en que varios elementos y compuestos están presentes en el cuerpo del animal y en la dieta que se consume (Alarcón-Corredor, 2009).

Figura 2. Rango de dosis-respuesta de un elemento esencial (Se y Fe).



Alarcón-Corredor, 2009

Los efectos secundarios son pocos y casi siempre reversibles al cesar el tratamiento, sin embargo hay que tener en cuenta que si no se administran de la forma correcta pueden aparecer efectos no deseados (Sánchez, 2010). Sin embargo, cuando los elementos traza u oligoelementos no están presentes en el organismo y son utilizados de forma correcta, poseen reconocidas propiedades farmacológicas (Berthélémy, 2008).

2.4.4.3. Oligoterapia

El uso de los oligoelementos con fines terapéuticos (oligoterapia), comienza en Francia con las investigaciones de Gabriel Bertrand (finales del siglo XIX) y Jacques Menetrier (mediados del siglo XX). Desde entonces y hasta ahora, diversos estudios muestran que alteraciones en el equilibrio homeostático de los oligoelementos pueden provocar efectos negativos sobre la salud (Escanero *et al.*, 2013). Se trata de un tipo de tratamiento que se realiza mediante la utilización de minerales y metales en pequeñas cantidades los cuales están implicados en las funciones e intercambios biológicos del organismo. Actualmente se considera esencial en el campo de la medicina, ya que no se dirige directamente a los síntomas pero sí a la causa principal de la enfermedad.

En la oligoterapia se utilizan dosis moderadas-bajas de elementos traza durante largos períodos de tiempo (Berthélémy, 2008).

La oligoterapia, intenta aportar al organismo aquellos oligoelementos necesarios para un óptimo funcionamiento celular y vigila que todos ellos estén en perfecto equilibrio.

Según Marco (2008) en el tratamiento con oligoelementos se puede distinguir:

- Oligoterapia catalítica (o Menetrier): activa un oligoelemento presente en el organismo para así regular una determinada ruta metabólica.

- Oligoterapia nutricional: administración de oligoelementos en dosis nutricionales para la prevención y tratamiento de estados patológicos.

- Oligoterapia farmacológica: administración de dosis elevadas de oligoelementos para obtener efectos terapéuticos preventivos o curativos.

En la actualidad Ramírez *et al* (2015) han propuesto una nueva clasificación de los oligoelementos en base a su esencialidad. Elementos con función esencial sospechada hasta

ahora (Li, V, Sn) pasan a formar parte del grupo de oligoelementos con funciones probadas de esencialidad. Además, dos elementos considerados hasta ahora tóxicos (Re, Te), pasan al grupo de oligoelementos con función esencial sospechada. Esta propuesta de clasificación podrá servir de ayuda para la formulación y administración de complementos alimenticios ricos en oligoelementos en individuos con enfermedades metabólicas, carenciales o con cualquier otro tipo de patología directa o indirectamente asociada a alteraciones en la homeostasis (Ramírez *et al.*, 2015).

2.4.4.3.1. Formas de presentación y vías de administración

Las presentaciones más usadas son las soluciones orales (ampollas, botellas, frascos), sin embargo, también pueden administrarse en tabletas y gránulos sublinguales. Al igual, que pueden aplicarse tópicamente para lograr efectos cicatrizantes y antiinflamatorios, o por vía nasal con propiedades antialérgicas (Berthélémy, 2008). Sin embargo hay que tener en cuenta que en oligoterapia se utiliza casi siempre la vía oral, y más específicamente la vía perlingual que es la administración clásica mayormente utilizada y descrita en la literatura internacional. La rica vascularización de la lengua y de la boca en general, favorece la entrada en el círculo sanguíneo de los oligoelementos evitando el tracto digestivo, alcanzando así su labor catalítica (Torti, 2000). Generalmente se recomienda tomarlos en ayunas para evitar posibles interferencias (fenómenos quelantes) con los alimentos, y en lo posible se recomienda esperar de 15 a 20 minutos entre la administración de uno y otro, con el fin de evitar la competencia entre ellos (Berthélémy, 2008). Gracias a la administración en dosis bajas, se asegura su ionización y biodisponibilidad, lo que favorece su función catalítica, además esto garantiza que no haya una dosificación excesiva, la cual sea especialmente peligrosa en el caso de los metales pesados (Torti, 2000).

Generalmente se utilizan solos (Al, Ag, Bi, Co, Cu, F, Li, Mg, Mn, Au, P, K, Se, S, Zn) aunque pueden estar asociados (Cu Au-Ag, Mn-Co, Mn-Cu, Mn-Cu-Co, Zn-Cu, Zn-Ni-Co) (Tabla 7) (Berthélémy, 2008). Como el elemento que se utiliza es el metal, debe presentarse en una forma altamente ionizada. Esta es la razón por la que en las preparaciones oligoterápicas se utilizan sales y gluconatos. Si utilizáramos sales de ácidos fuertes, como los sulfatos y cloruros, que provocan una gran disociación electrolítica, habría menor cantidad de iones metálicos biodisponibles (Torti, 2000).

La posología más habitual es de una ampolla diaria, se prescriben de 3 a 5 veces por semana (Mn, Mn-Cu, Mn-Co, Cu-Au-Ag) y algunos pueden utilizarse varias veces al día (Li, Cu) (Berthélémy, 2008) incluso el aumento en su posología, se recomienda en las fases agudas de algunas enfermedades (Torti, 2000).

Tabla 7. Posibles combinaciones de los oligoelementos.

Asociación de oligoelementos	
Cobalto - Cobre - Litio -Manganeso Magnesio - Potasio - Hierro -Zinc - Selenio	Estados generales de fatiga psíquica y física
Hierro-Cobre-Cobalto	Anemia, hipotensión.
Cobre-Manganeso-Magnesio-Zinc	Estados infecciosos o inflamatorios en fase aguda o crónica
Flúor-Yodo-Fósforo-Azufre	Artrosis, osteoporosis, descalcificación, raquitismo, caries dental.
Potasio-Manganeso-Cobre-Magnesio- Litio- Cobalto	Artrosis, osteoporosis, descalcificación, raquitismo, caries dental.
Litio-Magnesio-Manganeso Cobalto- Fósforo	Estados depresivos, ansiedad, nerviosismo, insomnio, fatiga psíquica.

Torti, 2000.

2.4.4.3.2. Litio

El Litio (Li) es un catión monovalente, que modula varios sistemas de segundos mensajeros, mediante inhibición y disminución del inositol-trifosfato (IP3) y el diacilglicerol (DAG), además actúa como modulador de la movilización intracelular del calcio (Quiroz *et al.*, 2004). Por otro lado, el Li también inhibe la proteína G debido a la disminución en la actividad de la adenilato ciclasa y la monofosfatasa adenosina a nivel cíclico (c-AMP) (DiGiovanna *et al.*, 1981). Presenta efectos inmunomodulares, pues estudios *in vitro* muestran que el litio modula las actividades de los linfocitos mejorando la proliferación de las células T (Kucharz *et al.*, 1988), y participando en la producción de inmunoglobulina G y M por parte de los linfocitos B (Weetman *et al.*, 1982).

Es un elemento nutritivo esencial que se encuentra principalmente en los alimentos de origen vegetal y en el agua de bebida (Schrauzer, 2002). Sin embargo, también se encuentra en el ambiente y su concentración e ingesta varía considerablemente de una región a otra (Schrauzer, 2002). Dicho oligoelemento está presente en todos los órganos y tejidos de los

seres vivos, y se distribuye por igual, gracias al agua corporal. Su deficiencia puede causar alteraciones en el comportamiento tanto en animales como en humanos (Schrauzer, 2002).

Dado que el uso psiquiátrico del litio fue descrito por primera vez en 1949 (Cade, 1949), este se ha convertido en un agente terapéutico en los humanos para tratar casos de trastornos bipolares (Ballanger *et al.*, 2008), trastornos depresivos mayores, psicosis y en la agresividad patológica (Bauer *et al.*, 2006). A pesar de su eficacia comprobada, su uso no se ha mantenido a lo largo del tiempo, esto se debe principalmente a los diferentes efectos adversos que puede presentar. En forma de carbonato de litio posee un índice terapéutico bastante estrecho y existe una amplia variación individual en la respuesta al tratamiento (Jaeger, 2012). Sin embargo, cuando es utilizado en dosis micromolares bajas resulta ser eficaz para la salud mental (Zarse *et al.*, 2011).

Este oligoelemento participa en las funciones de las células nerviosas y ayuda en el metabolismo de algunas moléculas que participan en la neurotransmisión cerebral (dopamina y catecolaminas) (Mejías, 2007). Es uno de los elementos encargados del intercambio iónico a nivel de la celular nerviosa y es el mayor estabilizador del ánimo (Berthélémy, 2008). Sin embargo, el litio no posee una acción enzimática directa, pero es capaz de competir con otros metales como el potasio y el sodio en las membranas sinápticas o con el magnesio, inhibiendo así la conversión de ATP (adenosintrifosfato) en AMPcíclico. Es así como su efecto inhibitor de la sinapsis supone una inhibición de los estímulos nerviosos, lo que explica su efecto depresor del sistema nervioso. Igualmente parece tener un efecto equilibrador de la adrenalina y la noradrenalina corporal (Mejías, 2007).

Entre los oligoelementos, el gluconato de litio es el agente más utilizado para tratar los problemas de hiperansiedad e hiperexcitación (Picard, 1985). Está indicado como modificador en algunos trastornos psíquicos especialmente en los niños o en procesos que cursan con alteraciones psicosomáticas en adultos, al igual que cuando existen trastornos del sueño, e irritabilidad (Viala, 2013). Diferentes estudios sugieren que el tratamiento con gluconato de litio puede ser eficaz en los trastornos de ansiedad y en el período de retiro cuando se han administrado benzodiazepinas (Lecrubier y Fessard 2005). Por otro lado, el litio refuerza los efectos del magnesio en pacientes con trastornos de ansiedad, dificultad de adaptación social y tendencia depresiva, al igual que puede ser útil en casos de ansiedad y agresividad en personas mayores (Berthélémy, 2008). Algunos estudios corroboran que su administración ayudaría en los procesos de disfunción cognitiva, pues participa como un

neuroprotector, mejorando la calidad de vida de estos individuos (Lei *et al.*, 2010; Ramírez *et al.*, 2015).

Por otro lado, diferentes estudios en animales muestran que su utilización ayuda a disminuir los signos de ansiedad y agresividad. En ratas tratadas con litio, hubo una disminución significativa de la agresión inducida por electrochoque (Marini *et al.*, 1979). En ratones las sales de litio ayudan a disminuir el número y la duración de las conductas agresivas, sin modificar los niveles de actividad e interacción social (Mukherjee y Pradhan, 1976). Administrado en el agua de bebida, el gluconato de litio produce en ratas efectos antidepressivos, y se muestra eficaz en el tratamiento de pacientes refractarios a las terapias antidepressivas convencionales (Martin *et al.*, 1995). En ganadería intensiva se ha utilizado con el fin de reducir el estrés y las conductas agresivas dentro del grupo (Ledoux, 2003). Con el mismo fin se ha utilizado en otras especies de interés zootécnico tales como las cabras (Anke *et al.*, 2005) y los cerdos (Dantzer y Mormede, 1979). Sin embargo, en perros, existen pocos estudios, si bien uno de ellos demostró que el litio es eficaz en el tratamiento de la agresividad por dominancia (Reisner, 1994).

Por el momento no se han descrito efectos nocivos para el gluconato de litio, incluso en oligoterapia actualmente se considera un oligoelemento con funciones probadas de esencialidad (Lecrubier y Fessard, 2005; Ramírez *et al.*, 2015) de especial interés para el tratamiento de patologías neurodegenerativas, maniaco depresivas (Pérez-Martínez, 2009), trastornos de ansiedad y de angustia, irritabilidad, tensiones musculares y todas las situaciones de nerviosismo en general (Mejías, 2007). Sin embargo, niveles en sangre por encima de los 2meq/l se consideran tóxicos y pueden producir confusión, temblor, hiperreflexia, convulsiones y coma, al igual que alteraciones electrocardiográficas y trastornos gastrointestinales como vómitos y diarrea (Mejías, 2007).

Por todo lo expuesto anteriormente, la oligoterapia, y más concretamente el gluconato de litio, parecen abrir un nuevo e interesante campo de estudio en el tratamiento de las patologías conductuales de los perros. Su baja toxicidad, así como su buena aceptación por parte del propietario lo convierten en una alternativa a considerar respecto a los tratamientos convencionales de los trastornos de ansiedad en los perros.

2.5. BIBLIOGRAFÍA

Abbot Laboratories., 2004. Traxene product information. Physicians desk reference, Medical Economics Company. Montvale. New Jersey.

Alarcón-Corredor, O.M., 2009. Los elementos traza. Revista Médica de la Extensión Portuguesa - ULA.pp.43.

Amano, K., Takamatsu, J., Ogata, A., Katsuragi, S., Miyazaki, C., Deshimaru, M., Sumiyoshi, S., Miyakawa, T., 1999. Effect of dipotassium clorazepate on amygdaloid-kindling and comparison between amygdaloid- and hippocampal-kindled seizures in rats. *European Journal of Pharmacology* 385(2-3), 111-117.

Amat, M., Manteca, X., Mariotti, V., Ruiz de la Torre, J., Fatjó, J., 2009. Aggressive behavior in the English cocker spaniel. *Journal of Veterinary Behavior* 4, 111-117.

Amorim, C.W., 1997. Estudio transcultural de la ansiedad: Adaptacion del ISRA a la población Brasileña. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Psicología.

Anderson, G.D., Miller, J.W., 2002. Benzodiazepines: chemistry, biotransformation, and pharmacokinetics. In: Levy RH, Mattson RH, Meldrum BS, Peracca E, eds. *Antiepileptic drugs*, 5th edn. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins.pp.187-205.

Anholt, R.H., Mackay, T.F., 2012. Genetics of Aggression. *Annual Review Genetics* 46, 145-64.

Anke, M., Arnold, W., Mullern, R., Schafer, U., 2005. Lithium and Rubidium in the food chain, intake by man, essentiality ad toxicity. *Satellite symposium on lithium Athens*. 13-41.

Appleby, D., Pluijmakers, J., 2004. Separation anxiety in dogs: The function of homeostasis in its development and treatment. *Veterinary Clinics North American Small Animal Practice* 19(4), 205-215.

Archer, J., 2006. Testosterone and human aggression: An evaluation of the challenge hypothesis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 30 (3), 319-345.

Artigas, F., 2013. Serotonin receptors involved in antidepressant effects. *Pharmacology Therapy* 137(1), 119-131.

Ashton, H., 1994. Guidelines for the Rational Use of Benzodiazepines - When and What to Use. *Drugs* 48, 25-40.

Askew, H.R., 1996. Fear problems and separation anxiety, in *Treatment of behaviour problems in dogs and cats*. Cambridge, MA, Blackwell Science. pp. 204-227.

Askew, H., 2005. Tratamiento de los problemas de comportamiento en perros y gatos. 2ª ed. Intermedica. Argentina. pp.444.

Asociación Americana de Psiquiatria., 1994. Manual Diagnóstico y Estadístico de las enfermedades mentales, Ed. Washington.p. 41.

Aujard, F., Perret, M., 1998. Age-related effects on reproductive function and sexual competition in the male prosimian primate, *Microcebus murinus*. *Physiology and Behavior* 64 (4), 513-519.

Ayelli, E.V., Cremaschi, G.A., Sterin-Borda, L., Genaro, A.M., 2002. Altered expression of autonomic neurotransmitter receptors and proliferative responses in lymphocytes from chronic mild stress model of depression: effects of fluoxetine *Brain Behavior and Immunity* 16, 333–350.

Bakshi, V.P., Kalin, N. H., 2000. Corticotropin-Releasing Hormone and Animal Models of Anxiety: Gene–Environment Interactions. *Biological Psychiatry* 48,1175–1198.

Balm, P.H.M., 1999. Preface. In: Balm PHM, editor. *Stress physiology in animals*. Sheffield Academic Press.

Ballamwar, V.A., Bonde, S.W., Mangle, N.S., 2008. Noise Phobia in Dog. *Veterinary World* 11(1), 351.

Ballanger, F., Tenaud, I., Volteau, C., Khammari, A., 2008. Anti-inflammatory effects of lithium gluconate on keratinocytes: a possible explanation for efficacy in seborrhoeic dermatitis. *Archives of Dermatological Research* 300, 215–223.

Bamberger, M., Houpt, K.A., 2005. Trends in canine and feline behavioral diagnoses: 1991-2001. In: Mills, D., Levine, E., Landsberg, G., (eds): *Current Issues and Research in Veterinary Behavioral Medicine*. West Lafayette, In: Purdue University Press. pp.168.

Bamberger, M., Houpt, K.A., 2006. Signalment factors, comorbidity, and trends in behavior diagnoses in dogs: 1644 cases (1991–2001). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 229, 1591–1601.

Bauer, M., Grof, P., Muller-Oerlinghausen, B., 2006. *Lithium in neuropsychiatry: the comprehensive guide*. Informa health care, London.

Beata, C., Beaumont-Graff, E., Diaz, C., Marion, M., Massal, N., Marlois, N., Muller, G., Lefranc, C., 2007. Effects of alpha-casozepine (Zylkene) versus selegiline hydrochloride (Selgian, Anipryl) on anxiety disorders in dogs. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 2(5), 175-183.

Beaver, B., 1999. *Canine Behavior: A Guide for Veterinarians*. Saunders, St. Louis, pp. 137-199.

Bebbington, P.E., Bhugra, D., Brugha, T., 2004. Psychosis, victimisation and childhood disadvantage: Evidence from the second British National Survey of Psychiatric Morbidity. *British Journal of Psychiatry* 185, 220-226.

Beerda, B., Schilder, M., van Hooff, J.A., 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. I. Behavioral Responses. *Physiology & Behavior* 66, 233-242.

Bejarano, F., Piñol, J.L., Gilabert, N., Luque, P., López, N., Gallisa, J., 2008. Elevado consumo de benzodiazepinas en mujeres ancianas asignadas a centros de salud urbanos de atención primaria. *Atención Primaria* 40(12), 617-21.

Bennett, A.I., Lesh, K.P., Helis, A., 2002. Early experience and serotonin transporter gene variation interact to influence primates CNS function. *Molecular Psychiatry* 7, 118-22.

Bermúdez, J., Luna, M. D., 1980. Ansiedad. En Fernández Trespalacios (Ed.), *Psicología General II*. Madrid: IJNIED.

Berthélémy, S., 2008. Oligoéléments, des microéléments pour l'oligothérapie. *Actualités Pharmaceutiques* 47(480), 22-27.

Berthélémy, S., 2008a. Les oligoéléments, généralités et macroéléments. *Actualités Pharmaceutiques* 47(472), 24-29.

Biosca, E., 1998. *Etología Clínica Veterinaria*. Asociación Madrileña de etología clínica veterinaria (A.M.E.V.E.). Ansiedad por separación de un perro joven. Descripción de un caso clínico. Editado por: Miguel Ibáñez, Cristina Domínguez. pp.246

Bousoño, G.M., Sáiz, P.A., González, M.P., Bobes, J., 1999. Protocolo diagnóstico de los estados de ansiedad. *Medicine* 7, 4969-4971.

Boussard, M., Gaspar, E., Labraga, P., Dóttone, A., 2002. Pautas terapéuticas de los trastornos de ansiedad. *Revista de Psiquiatría del Uruguay* 66, 130-52.

Bowen, J., Heath, S., 2007. The role of pharmacology in behavioural medicine. In: *Behaviour problems in Small Animals. Practical Advice for the Veterinary Team*. Elsevier Saunders. pp.49– 69.

Braff, D.L., Geyer, M.A., 1991. Reply to pitfalls in animal models. *Archives of General Psychiatry* 48, 380.

Brandish, E.K., Baldwin, D.S., 2012. Anxiety disorders. *Psychiatric disorders. Medicine* 40(11), 599-606.

Brawman-Mintzer, O., 2001. Pharmacologic Treatment of Generalized Anxiety Disorders. *Psychiatric Clinics of North America* 24(1), 119-37.

Brown, S.A., Forrester, S.D., 1991. Serum disposition of oral clorazepate from regular-release and sustained-delivery tablets in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 14(4), 426-429.

Bruhwyler, J., Chleide, E., 1990. Comparative-Study of the Behavioral, Neurophysiological, and Motor Effects of Psychotropic-Drugs in the Dog. *Biological Psychiatry* 27(11), 1264-1278.

Cade, J.F., 1949. Lithium salts in the treatment of psychotic excitement. *The Medical Journal of Australia* 2, 349–352.

Cameron, D.B., 1997. Canine dominance-associated aggression: concepts, incidence, and treatment in a private behavior practice. *Applied Animal Behaviour Science* 52(3–4), 265-274.

Campbell, W.E., 1986. The prevalence of behaviour problems in American dogs. *Modern. Veterinary Practice* 67, 28-31.

Caramaschi, D., de Boer, S.F., Koolhaas, J.M., 2007. Differential role of the 5-HT1A receptor in aggressive and non-aggressive mice: An across-strain comparison *Physiology and Behavior* 90(4), 590-601.

Carr, J.E., LeBlanc, L.A., 2003. Functional analysis of problem behavior W. O'Donohue, J.E. Fisher, S.C. Hayes (Eds.), *Cognitive Behavior Therapy: Applying Empirically Supported Techniques in Your Practice*, Wiley, Hoboken, NJ.pp.167–175.

Casado, M.I., 1994. *Ansiedad, estrés y trastornos psicofisiológicos*. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Psicología.

Casey, R., 2006. Fear and stress in companion animals. In: Horwitz, D., Mills, D., Heath, S. (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Behavioural Medicine*. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, UK.pp.143–144.

Casey, R.A., Loftus, B., Bolster, C., Richards, G.J., Blackwell, E.J., 2014. Human directed aggression in domestic dogs (*Canis familiaris*): Occurrence in different contexts and risk factors. *Applied Animal Behaviour Science* 3(152), 52-63.

Caston, J., 1993. *Psychophysiologie*. Paris: Ellipses.

Catanzaro, T.E., 2002. *Promoción del vínculo humano-animal en la práctica veterinaria. Fundamentos para la jerarquización profesional*. 1ª Ed. Buenos Aires. Intermedica.pp.221.

Charney, D.S., Mihic, S.J., Harris, R.A., 2006. Hipnóticos y sedantes. En: Brunton L.L., Lazo J.S., Parker K.L. Goodman and Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11ª ed. McGraw-Hill Interamericana. México DF.

Cicchetti, D., Natsuki, M., Granic, I., 2014. The role of anxiety in the development, maintenance, and treatment of childhood aggression. *Development and Psychopathology, suppl. Multilevel Developmental Perspectives Toward Understanding* 26(2), 1515-1530.

Chichinadze, K., Chichinadze, N., Lazarashvili, A., 2011. Hormonal and neurochemical mechanisms of aggression and a new classification of aggressive behavior. *Aggression and Violent Behavior* 16(6), 461-471.

Crowell-Davis, S.L., Seibert, L.M., Sung, W., Parthasarathy, V., Curtis, T.M., 2003. Use of clomipramine, alprazolam, and behavior modification for treatment of storm phobia in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 222, 744–748.

Crowell-Davis, S.H., Murray, T., 2006. *Veterinary Psychopharmacology*. Blackwell.Publishing, Oxford, UK.pp.51.

Curran, H.V., Collins, R., Fletcher, S., Kee, S.C.Y., Woods, B., Iliffe, S., 2003. Older adults and withdrawal from benzodiazepine hypnotics in general practice: effects on cognitive function, sleep, mood and quality of life. *Psychological Medicine* 33, 1223–7.

Dantzer, R., Mormede, P., 1979. Effects of lithium on aggressive behaviour in domestic pigs. *J Vet Pharmacol Ther* 2(4), 299-303.

De Almeida, R.M.M., Cabral, J.C.C., Narvaes, R., 2015. Behavioural, hormonal and neurobiological mechanisms of aggressive behaviour in human and nonhuman primates. *Physiology & Behavior* 1(143), 121-135.

De Boer, S.F., Koolhaas, J.M., 2005. 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptor agonists and aggression: A pharmacological challenge of the serotonin deficiency hypothesis. *European Journal of Pharmacology* 526(1-3), 125-139.

Deckel, A.W., 1996. Behavioral changes in *Anolis carolinensis* following injection with fluoxetine. *Behavioural Brain Research* 78, 175-182.

Dehasse, J., 2006. Papel de la familia en la terapia del comportamiento. In: Horwitz, D., Mills, D., Heath, S. *Manual de comportamiento en pequeños animales*. Barcelona-España pp.457.

Delay, J., Deniker, P., 1952. Trente-huit cas de psychoses traitées par la cure prolongée et continue de 4560 RP. Le congrés des AI et Neurol de Langue Fr. En: *Compte Rendu de Congrès*. Masson et Cie, París.

De Lucas, J.J., San Andres, M., Waxman, S., 2004. Psicofarmacología de las alteraciones del comportamiento animal I. Prescripción racional. *Panorama Actual del Medicamento* 28, 636–645.

den Boer, J.A., Westenberm, H.G., De Leeuw, A.S., van Vliet, I. M., 1995. Biological dissection of anxiety disorders: the clinical role of selective serotonin reuptake inhibitors with particular reference to fluvoxamine. *International Clinical Psychopharmacology* 9(4), 47–52.

Deniker, P., Colonna, L., Ginestet, D., Loo, H., 1972. Indications for Lithium Salts in Psychiatry. *Nouvelle Presse Medicale* 1(44), 2959-2968.

Del Río, J., Flórez, J., 2008. Farmacos antidepresivos y antimaníacos. En: Jesús Flórez, Juan Antonio Armijo y África Mediavilla. *Farmacología Humana*. 5ª ed. Elsevier Masson. España.

Diesel, G., Brodbelt, D., Pfeiffer, D.U., 2010. Characteristics of relinquished dogs and their owners at 14 rehoming centers in the United Kingdom. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 13, 15–30.

DiGiovanna, J.J., Aoyagi, T., Taylor, J.R., Halprin, K.M., 1981. Inhibition of epidermal adenylyl cyclase by lithium carbonate. *Journal of Investigative Dermatology* 76, 259–263.

DiMascio, A., 1973. The effect of benzodiazepines on aggression: reduced or increased? In the benzodiazepines, pp 433-440, edited by S Garattini, E Mussini and LO Randall, Raven Press, New York.

Doble, A., Martin, I.L., 1992. Multiple benzodiazepine receptors: no reason for anxiety. *Tip. Revista especializada en Ciencias Químico- Biológicas* 13,76-81.

Dobson, H., Smith, R.F., 1995. Stress and reproduction in farm animals. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* 49,451-61.

Dodman, N.H., Donnelly, R., Shuster, L., 1996. Use of fluoxetine to treat dominance aggression in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 209, 1585-1587.

Dodman, N., Shuster, L., 2000. *Psychopharmacology of Animal Behavior Disorders*. Blackwell Science, Malden, MA, USA. pp.170.

Dreschel, N.A., 2010. The effects of fear and anxiety on health and lifespan in pet dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 125(3-4), 157-162.

Drugan, R.C., Holmes, P.V., 1991. Central and peripheral benzodiazepine receptors: involvement in an organism's response to physical and psychological stress. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 15, 277-298.

Duffy, D.L., Hsu, Y., Serpell, J.A., 2008. Breed differences in canine aggression. *Applied Animal Behaviour Science* 114(3-4), 441-460.

Epel, E.S., Blackburn, E.H., Lin, J., Dhabhar, F.S., Adler, N.E., Morrow, J.D., Cawthorn, R.M., 2004. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proceedings of the*

Escanero, J.F., Soria, M.S., Guerra, M., 2013. Contribución actual de los elementos traza y minerales en medicina. Su papel clínico. *Textos docentes: Universidad de Zaragoza*. pp.166.

Fatjó, J., Ruiz de la Torre, J.L., Manteca, X., 2006. The epidemiology of behavioural problems in dogs and cats: a survey of veterinary practitioners. *Animal Welfare*. 15, 179-185.

Fatjó, J., Amat, M., Mariotti, V.M., de la Torre, J.L., Manteca, X., 2007. Analysis of 1040 cases of canine aggression in a referral practice in Spain. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 2(5), 158-165.

Faure, S., 2008. Sels de lithium. *Actualités Pharmaceutiques* 47(471), 37-39.

Ferris, C.F., Melloni, R.H., Koppel, G., Perry, K.W., Fuller, R.W., Delville, Y., 1997. Vasopressin/serotonin interactions in the anterior hypothalamus control aggressive behavior in golden hamsters. *The Journal Of Neuroscience* 17(11), 4331-4340.

File, S.E., 1984., Behavioural pharmacology of benzodiazepines. *Progress in Neuro-psychopharmacol & Biological Psychiatry* 8, 19-31

Fitzgerald, K.T., Bronstein, A.C., 2013. Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Exposure. *Topics in Companion Animal Medicine* 28(1), 13-7.

Forrester, S.D., Brown, S.A., Lees, G.E., Hartsfield, S.M., 1990. Disposition of clorazepate in dogs after single-and multiple-dose oral administration. *American Journal of Veterinary Research* 51(12), 2001-2005.

Froestl, W., 2011. GABA receptors. *Review* 7.

Gesch, C.B., Hammon, S.M., Hampson, S.E., Eves, A., Crowder, M.J., 2002. Influence of supplementary vitamins, minerals and essential fatty acids on the antisocial behaviour of young adult prisoners. *The British Journal of Psychiatry* 181, 22-28.

Giammanco, M., Tabacchi, G., Giammanco, S., Di, Majo., La Guardia, M., 2005. Testosterone and aggressiveness *Medical Science Monitor* 11(4).

Goldberger, E., Rapoport, J.L., 1990. Canine acral lick dermatitis: response to the antiobsessional drug clomipramine. *Journal of the American Animal Hospital Association* 27, 179-182.

González, A., Santamarina, G., Diéguez, F.J., Suárez, M.L., De la Cruz, L.F., 2011. Risk factors associated with behavioral problems in dogs. *Journal of veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 6(4), 225-231.

Gonçalves, E., 2003. Trastornos de ansiedad en atención primaria. En: Gonçalves, E., González, V.M., Vázquez, J. *Atención Primaria de Calidad. Guía de Buena práctica clínica en depresión y ansiedad.*

Gómez, C., Saldívar, J.A., Rodríguez, R., 2002. Modelos animales para el estudio de la ansiedad: Una aproximación crítica. *Salud Mental* 25(1), 14-24.

Gowin, J.L., Swann, A.C., Moeller, F.G., Lane, S.D., 2010. Zolmitriptan and human aggression: Interaction with alcohol. *Psychopharmacology* 210(4), 521-531.

Grantham-McGregor, S.M., Ani, C.C., 1999. The role of micronutrients in psychomotor and cognitive development. *British Medical Bulletin* 55, 511-527.

Gross, J.J., 1999. Emotion regulation: past, present, future. *Cognition and Emotion* 13, 551-573.

Haden, S.C., Scarpa, A., 2007. The noradrenergic system and its involvement in aggressive behaviors *Aggression and Violent Behavior* 12(1), 1-15.

Haefely, W., Pieri, L., Polc, P., Schaffner, R., 1981. General pharmacology and neuropharmacology of benzodiazepine derivatives. In: Hoffmeister F, Stille G, eds. *Handbook of Experimental Pharmacology, Vol 55/II.* Berlin.pp.262.

Haller, J., Halász, J., 2000. Anxiolytic effects of repeated victory in male Wistar rats. *Aggressive Behavior* 26(3), 257-261.

Hanley, N.R., Van de Kar, L.D., 2003. Serotonin and the neuroendocrine regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in health and disease. *Vitamins & Hormones* 66, 189-255.

Hart, B., Hart, L., 1985. Selecting pet dogs on the basis of cluster-analysis of breed behavior profiles and gender *Journal of the American Veterinary Medical Association* 186, 1181-1185.

Hart, B.L., Cooper, L.L., 1996. Integrating the use of psychotropic drugs with environmental management and behavioral modification for treatment of problem behavior in animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 209, 1549-1551.

Hart, B.L., Hart, L.A., Bain, M.J., 2009. Tratamiento de la conducta canina y felina. *Intermédica* (Ed). 2ª edición. Buenos aires. Argentin.pp.309.

Haour, F., Dantzer, R., Dardenne, M., Geenen, V., Heijnen, C., Kordon, K., 1989. Interactions neuro-immuno-endocriniennes: aspects moléculaires. *Conférences Philippe Laudat, INSERM*.

Heiden, A., Frey, R., Presslich, O., Blasbichler, T., Smetana, R., Kasper, S., 1999. Treatment of severe mania with intravenous magnesium sulphate as a supplementary therapy. *Psychiatry Research* 89, 239-246.

Herron, M.E, Shofer, F.S, Reisner, I.R., 2009. Survey of the use and outcome of confrontational and non-confrontational training methods in client-owned dogs showing undesired behaviors. *Applied Animal Behaviour Science* 117(1-2), 47-54.

Hollander, E., 1993. *Obsessive-Compulsive-Related Disorders*. Hollander E (ed). Washington, DC: American Psychiatric Press Inc. 1.

Holliday, T.A., Cunningham, J.G., Gutnick, M.J., 1970. Comparative clinical and electroencephalographic studies of canine epilepsy. *Epilepsia* 1, 281.

Horwitz, D., 2006. Problemas de separación en perros. En: Horwitz, D., Mills, D., Heath, S. (EdS). *Manual de comportamiento en pequeños animals*. España. 247-261.

Horwitz, D.F., 2008. Managing pets with behavior problems: Realistic expectations. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 38(5), 1005-1021.

Horwitz, D.F., Pike, A.L., 2014. Common Sense Behavior Modification: A Guide for Practitioners. *Veterinary Clin Landsberg ics of North America: Small Animal Practice* 44(3), 401-426.

Hsu, Y., Sun, L., 2010. Factors associated with aggressive responses in pet dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 123(3-4), 108-123.

Hurlé, M.A., Monti, J., Flórez, J., 2008. Fármacos ansiolíticos y sedantes. En: Jesús Flórez, Juan Antonio Armijo y África Mediavilla. *Farmacología Humana*. 5ª ed. Elsevier Masson.España.

Hwan, J.J., Kim, H.S., Ha, T.H., Shin, N.Y., Kang, D.H., Choi, J, Ha, K., Kwon, J.S., 2010. Nonverbal memory and organizational dysfunctions are related with distinct symptom dimensions in obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Research* 180(2), 93-98.

Ibáñez, M., Ánzola, B., 2009. Use of fluoxetine, diazepam, and behavior modification as therapy for treatment of anxiety-related disorders in dogs. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 4(6), 223-229.

Ibáñez, M., Ánzola, B., 2009a. Guía farmacológica de las benzodiazepinas en el tratamiento de desordenes relacionados con la ansiedad en perros pharmacologic guide of benzodiazepines in treatment of anxiety disorders in dogs. *Revista Complutense de ciencias veterinarias* 3(1), 62-7.

Iracka, J., 1999. French and American approach to small animal behavioural disorders: a few examples. In: *Proceedings of the Second World Meeting on Ethology*.pp.69–75

Iwata, B.A., Dorsey, M.F., Slifer, K.J., Bauman, K.E., Richman, G.S., 1994. Toward a functional analysis of self-injury. *Applied Behavior Analysis* 27,197–209 Reprinted from *Anal. Interv. Dev. Disabil.* 2, 3-20, 1982.

Jaeger, A., 2012. Lithium. *Medicine* 40(3), 131-132.

Jagoe, A., Serpell, J., 1996. Owner characteristics and interactions and the prevalence of canine behaviour problems. *Applied Animal Behaviour Science* 47(1–2), 31-42.

Jones, A.C., Gosling, S.D., 2005. Temperament and personality in dogs (*Canis familiaris*): A review and evaluation of past research. *Applied Animal Behaviour Science* 95(1-2), 1-53.

Jones, B., Boissy, A., 2011. Fear and other negative emotions. In: Appleby, M.C., Hughes, B.O., Mench, J.A., Olsson, A. (Eds.), *Animal welfare*. CABI, Wallingford, Oxon, UK, pp. 78–97

Kalin, N.H., Shelton, S.E., Davidson, R.J., 2000. Cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone levels are elevated in monkeys with patterns of brain activity associated with fearful temperament. *Biology Psychiatry* 47, 579 –585.

Kaplan, B.J., Crawford, S.G., Gardner, B., Farrelly, G., 2002. Treatment of mood lability and explosive rage with minerals and vitamins: two case studies in children. *Journal of the Child and Adolescent Psychopharmacology* 12, 205-219.

Kaplan, B.J., Leung, B., 2011. Micronutrient Treatment of Mental Disorders. *Integrative Medicine* 10(3), 32-39.

Karkos, J., 1991. The neurotoxicity of benzodiazepines. *Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie* 59, 498–52.

Kiejna, A., Kantorska-Janiec, M., Małyszczak, K., 1997. The use of chlorazepate dipotassium (Tranxene) in the states of restlessness and agitation. *Psychiatria Polska* 31(6), 753.

Koob, G.F., Heinrichs, S.C., 1999. A role for corticotropin-releasing factor and urocortin in behavioral responses to stressors. *Brain Research* 848, 141–152.

Koolhaus, J.M., Meerlo, P., DeBoer, S.F., Strubbe, J.H., Bohus, B., 1997. The temporal dynamics of the stress response. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 21, 775–782.

Korte, S.M., Bouws, G.A.H., Bohus, B., 1993. Central actions of corticotropin-releasing hormone (CR-H) on behavioral, neuroendocrine and cardiovascular regulation: brain corticoid receptor involvement. *Hormones and Behavior* 27, 167–83.

Kroeze, Y., Zhou, H., Homberg, J.R., 2012. The genetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacology & Therapeutics* 136(3), 375-400.

Kucharz, E.J., Sierakowski, S., Staite, N.D., Goodwin, J.S., 1988. Mechanism of lithium-induced augmentation of T-cell proliferation. *International Journal of Immunopharmacology* 10, 253–259.

Kudryavtseva, N.N., 2000. An experimental approach to the study of learned aggression. *Aggressive Behavior*, 26 (3), 241-256.

Kudryavtseva, N.N., Bondar, N.P., Avgustinovich, D.F., 2002. Association between experience of aggression and anxiety in male mice. *Behavioural Brain Research* 133(1), 83-93.

Kulkarni, S. K., Sharma, K., 1993. Alprazolam modifies animal behaviour on elevated plus-maze. *Indian journal of experimental biology* 31(11), 908-911.

Kumar, R., Palit, G., Singh, J.R., Dhawan, B.N., 1999. Comparative Behavioural effects of benzodiazepine and non-benzodiazepine anxiolytics in rhesus monkeys. *Pharmacological Research* 39(6), 437-444.

Kruk, M.R., Halász, J., Meelis, W., Haller, J., 2004. Fast positive feedback between the adrenocortical stress response and a brain mechanism involved in aggressive behavior. *Behavioral Neuroscience* 118, 1062-1070.

Lader, M.H., 1999. Limitations on the use of benzodiazepines in anxiety and insomnia: are they justified? *European Neuropsychopharmacology* 9(6), 399-405.

Lader, M., 2011. Benzodiazepines revisited—will we ever learn? *Addiction* 106, 2086–2109.

Landsberg, G., Hunthausen, W., Ackerman, L. 1ª edición. 1998. *Manual de problemas de conducta del perro y gato*, Acribia, Zaragoza.

Landsberg, G.M., 2001. Clomipramine- Beyond separation anxiety. *Journal of American Animal Hospital Association* 37, 313-318.

Landsberg, G.M., Hunthausen, W., Ackerman, L., 2003. In: Elsevier, editor. *Handbook of Behavior Problems of the Dog and Cat*. 2nd ed. pp. 258-267

Landsberg, G.M., Melese, P., Sherman, B.L., Neilson, J.C., Zimmerman, A., Clarke, T.P., 2008. Effectiveness of fluoxetine chewable tablets in the treatment of canine separation anxiety. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* (1), 12-19.

Landsberg, G.M., Shaw, J., Donaldson, J., 2008a. Handling Behavior Problems in the Practice Setting. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 38(5), 951-969.

Larson, E.T., Summers, G.H., 2001. Serotonin reverses dominant social status. *Behavioural Brain Research* 121, 95-102

Lecrubier, Y., Fessard, N., 2005. Arrêt des benzodiazépines chez des consommateurs chroniques: un essai en double insu du gluconate de lithium vs placebo. *Annales Médico-psychologiques, revue psychiatrique* 163(1), 24-29.

LeDoux, J.E., 1995. Emotion: Clues from the brain. *Annual Review of Psychology*, 46, 209-235.

Ledoux, J.M., 2003. Features of the comparative pharmacokinetics of lithium, a potential application of its use in livestock farming. *Medical Hypotheses*, 61(2), 278-281

Lei, P., Ayton, S., Finkelstein, D.I., 2010. Tau protein: Relevance to Parkinson's disease. *Int J Biochem Cell Biol* 42, 1775-1778.

Lelong-Boulouard, V., Quentin, T., Moreaux, F., Debruyne, D., Boulouard, M., Coquerel, A., 2006. Interactions of buprenorphine and dipotassium clorazepate on anxiety and memory functions in the mouse. *Drug and Alcohol Dependence* 85(2), 103-113.

Lewis, S., Nelson, A.R., 2007. Selective serotonin reuptake inhibitor poisoning: an evidence-based consensus guidelines for out-of-hospital management. *Journal of Clinical Toxicology* 45, 315-332.

Lindell, L., 2002. Control problems in dogs. In: Horwitz D, Mills D and Heath S (eds) *BSAVA Manual of Canine and Feline Behavioural Medicine* British Small Animal Veterinary Association: Gloucester, UK. pp.69-79.

Lindsay, S.R., 2001. Fears and phobias. *Handbook of Applied Dog Behaviour and Training, Volume II: Etiology and Assessment of Behaviour Problems*. Iowa State University Press: Ames, USA. pp.69-92

Liu, J., Atamna, H., Kuratsune, H., Ames, B.N., 2002. Delaying brain mitochondrial decay and aging with mitochondrial antioxidants and metabolites. *Annals of the New York Academy of Sciences* 959, 133-166.

Loup, F., Weinmann, O., Yonekawa, Y., 1998. A highly sensitive immunofluorescence procedure for analyzing the subcellular distribution of GABA(A) receptor subunits in the human brain. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 46, 1129-1139.

Lockwood, R., 1995. The ethology and epidemiology of canine aggression. J.A. Serpell (Ed.), *The Domestic Dog: Its Evolution, Behavior and Interactions with People*, Cambridge University Press, Cambridge. pp.131–138.

Loo, H., Zarifian, E., Boulenger, J.P., Davy, J.P., 1990. Psychotropic drugs. The drugs to prescribe. *La Revue du Praticien* 11, 1043-1064.

López-Muñoz, F., Álamo, C., Cuenca, E., 1999. Agresividad y psicofármacos reguladores e inductores de conductas agresivas. *Revista electrónica de psiquiatría* 3(2)

Luescher, A.U., 2003. Diagnosis and management of compulsive disorders in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 33(2), 253-267.

Luescher, A.U., Reisner, I.R., 2008. Canine Aggression Toward Familiar People: A New Look at an Old Problem. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 38(5), 1107-1130.

Maier, W., Gansicke, M., Freyberg, H., 2000. Generalized anxiety disorder (ICD-10) in primary care from a cross-cultural perspective: a valid diagnostic entity? *Acta Psychiatr. Scand.* 101, 29-36.

Manteca, J., 2003. Ansiedad por separación del perro y diagnósticos diferenciales. In: Manteca, J. *Etología clínica veterinaria del perro y del gato*. Ed. Multiméica. Barcelona.

Manthey, L., 2012. Determinants and consequences of long-term benzodiazepine use. Tesis para optar al grado de Doctor. Department of Psychiatry, Faculty of Medicine / Leiden University Medical Center (LUMC), Leiden University. Países Bajos.

Manuck, S.B., Kaplan, J.R., Lotrich, F.E., 2006. Brain serotonin and aggressive disposition in humans and nonhuman primates. Randy J. Nelson (Ed.), *Biology of aggression*, Oxford University Press, New York. pp.65–113.

Marder, A.R., 1991. Psychotropic Drugs and Behavioral Therapy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 21(2), 329-342.

Margules, D.L., Stein, L., 1968. Increase of "antianxiety" activity and tolerance of behavioral depression during chronic administration of oxazepam. *Psychopharmacology* 13, 74-80.

Mariotti, V.M, Fatjó, J., Amat, M., Manteca, X., 2008. Diagnósticos diferenciales y factores implicados en un problema de destructividad en el perro. *Apuntes de Etología* 28(4), 291-293.

Marks, L., 1986. *Tratamiento de neurosis*. Barcelona: Martínez Roca.

Martin, W.R., Sloan, J.W., Wala, E., 1990. Precipitated abstinence in orally doses benzodiazepine dependent dogs. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 255(1), 744-755.

Martin, P., Massol, J., Fievet, M.H., Laouënan, H., Chatelain, F., Puech, A., 1991. Antidepressant action of lithium gluconate alone and in co-administration with tricyclics in the learned helplessness paradigm in rats. *Pharmacological Research* 1(0), 282.

Martin, P., Fievet, M., Puech, A., 1995. Antidepressant action of lithium gluconate alone and in co-administration with tricyclics in the learned helplessness paradigm in rats. *Pharmacological Research* 31(1), 282.

Martínez- Espinosa, R.M., 2014. Como afectan los oligoelementos en la cría de aves? *Investigación* 57. <http://www.researchgate.net/publication/274063057>

Martinez-Sanchis, S., Salvador, A., Moya-Albiol, L., González-Bono, E., Simón, V.M., 1998. Effects of chronic treatment with testosterone propionate on aggression and hormonal levels in intact male mice. *Psychoneuroendocrinology*, 23(3), 275–293.

Márquez, C., 2006. Diferencias individuales en la respuesta endocrina al estrés: influencia de los rasgos de conducta. Tesis doctoral. Departamento de biología celular, Fisiología e Inmunología. Universidad Autónoma de Barcelona.

Matteri, R.L., Carroll, J.A., Dyer, C.J., 2000. Neuroendocrine responses to stress. In: Moberg GP, Mench JA, editors. *The biology of animal stress*. CABI Publishing. pp.43–76.

McCrave, E.A., 1991. Diagnostic criteria for separation anxiety in the dog. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 21, 247–255.

McDermott, C.M., Liu, D., Schrader, L.A., 2012. Role of gonadal hormones in anxiety and fear memory formation and inhibition in male mice. *Physiology & Behavior* 105(5), 1168-1174.

McEwen, B.S., 2008. Understanding the potency of stressful early life experiences on brain and body function. *Metabolism* 57, 1-5.

McEwen, B.S., Sapolsky, R.M., 1995. Stress and cognitive function. *Current Opinion in Neurobiology* 5(2), 205-216.

McEwen, B.S., 2005. Stressed or stressed out: what is the difference? *Journal of Psychiatry & Neuroscience*. 30, 315–318.

McTavish, D.M., Benfield, P., 1990. Clomipramine an overview of its pharmacological properties and a review of its therapeutic use in obsessive compulsive disorder and panic disorder. *Drugs* 39, 136-153.

Mejías Moreno, M.M., 2007. *Oligoterapia: bases y aplicaciones prácticas*. Labcatal ed. España. pp.207.

Mericangas, K., Avenevoli, S., Dierker, L., Grillon, Ch., 1999. Vulnerability factors among children at risk for anxiety. *Biol. Psychiatry*, 46, 1523-1535.

Mertens, P.A., 2006. Agresividad Canina. In: *Manual de comportamiento en pequeños animales*. Horwitz, D., Mills, D., Heath, S (Eds.) España. pp.317.

- Mertz, W., 1981. The essential trace elements. *Science* 213, 1332-1338.
- Meunier, C., 1970. L'amétallose enzymatique: contribution à l'étude du concept d'enzymopénie fonctionnelle par déficit cationique: étude biochimique et aspects hygiéno-nutritionnels, esquisse d'une théorie physio-pathologique applicable à certaines maladies humaines de la civilisation. Université de Toulouse.
- Mills, D.S., 2003. Medical paradigms for the study of problem behaviour: a critical review. *Applied Animal Behaviour Science* 81(3), 265-277.
- Mills, D.S., Sherman, B., 2006. Agentes psicotropicós. En: *Manal de comportamiento en pequeños animales*. Horwitz D, Mills D, Heath S. Eds. BSAVA.pp.457.
- Mitchell, A.J., 1998. The role of corticotropin-releasing factor in depressive illness: A critical review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 22, 635– 651.
- Moberg, G.P., 2000. Biological response to stress: implications for animal welfare. In: Moberg GP, Mench JA, editors. *The biology of animal stress*. CABI Publishing.pp.123–46.
- Mondragón, M., Echevarría, A., Diéz-Aja, C., Madrazo, M., 2010. Agonistas y antagonistas del receptor de benzodiazepinas. En: Salazar, M., Peralta, C., Pasto, F., *Tratado de psicofarmacología. Bases y aplicación clínica*. 2ª ed. Editorial Médica Panamericana S.A.
- Montserrat Esteve, S., Porta, A., Vallejo, J., 1978. La neurosis de angustia cronicada. *Rev.Dep.Psiq.Fac.Med.Barcelona*, 5(1), 5-16.
- Morrison, J.L., Chien, C., Riggs, K.W., Gruber, N., Rurak, D., 2002. Effect of maternal fluoxetine administration on uterine blood flow, fetal blood gas status, and growth. *Pediatric Research* 51(4), 433-442.
- Moore, A.J., Brodie, E.D., Wolf, J.B., 1997. Interacting phenotypes and the evolutionary process I. Direct and indirect genetic effects of social interactions. *Evolution* 51, 1352–62.
- Motelica-Heino, I., Edwards, D.A., Roffi, J., 1993. Intermale aggression in mice: Does hour of castration after birth influence adult behavior?. *Physiology & Behavior* 53(5), 1017–1019.
- Möstl, E., Palme, R., 2002. Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology* 7(1–2), 67-74.
- Moyer, K.E., 1968. Kinds of aggression and their physiological basis In: *Communications in Behavioral Biology*. Vol. 2. Pittsburgh, PA. And In: Moyer, K.E., *The psychobiology of aggression*. New York: Harper y Row, 1976.pp.402.
- Mukherjee, B.P., Pradhan, S.N., 1976. Effects of lithium on foot shock- induced aggressive behavior in rats. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie* 222, 125-131.

Müller, W.E., 1995. Benzodiazepin-Tranquilizer. Experimentelle und klinische Pharmakologie. In: Riederer P, Laux G, Po ¨ldinger W, eds. Neuropsychopharmaka, Ein Therapie-Handbuch. Vol. 2, Tranquilizer und Hypnotika. Vienna: Springer-Verlag, 23–41.

Munck, A., Guyre, P., Holbrook, N., 1984. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrine Reviews* 5, 25–44.

Neilson, J., 2006. Miedo a lugares o cosas. En: Horwitz, D., Mills, D., Heath, S. (EdS). *Manual de comportamiento en pequeños animals*. España.pp.279-290.

Notari, L., Goodwin, D., 2007. A survey of behavioural characteristics of pure-bred dogs in Italy. *Applied Animam Behavior Science* 103, 118–130.

Rapoport, J.L., Ryland, O.H., Kriete, M., 1992. Drug treatment of canine acral lick: an animal model of obsessive-compulsive disorder. *Archives of general Psychiatry* 49, 517-521.

Rey, E., Tre ¨luyer, J.M., Pons, G., 1999. Pharmacokinetic optimization of benzodiazepine therapy for acute seizures. Focus on delivery routes. *Clinical Pharmacokinetics* 36, 409–24.

Ohl, F., Arndt, S.S., van der Staay, F.J., 2008. Pathological anxiety in animals. *The Veterinary Journal* 175(1), 18-26.

Overall, K.L., 1992. Recognition, diagnosis and management of obsessive-compulsive disorders: Part I. *Canine Practice* 17, 40–44.

Overall, K.L., 1993. Treating canine aggression. *Canine Pratt Journal* 18(6), 24-28.

Overall, K.L., 1996. Drugs, pets, and Prozac. *Canine Practice* 21(5), 20-24.

Overall, K.L., 1997. Fears, anxieties and stereotypes. In: *Clinical Behavioral Medicine for Small Animals*. Mosby-Year Book, St. Louis, Missouri, USA.pp.209–250.

Overall, K.L., 1997a. Terminology in behavioral medicine. Diagnosis, necessary and sufficient conditions, and mechanism. *European Society of Veterinary Clinical Ethology Proceedings of the First International Conference on Veterinary Behavioural Medicine*, 14-19.

Overall, K.L., 1997b. The use of clomipramine to treat canine separation anxiety. A placebo- controlled double-blind study. *BSAVA/WSAVA Clinical Research Abstracts*. 298.

Overall, K., 2000. Natural Animal Models of human Psychiatric Conditions: Assessment of Mechanism and Validity. *Psychopharmacol & biol.psichiat* 24, 727-776.

Overall, K.L., 2001. Pharmacological Treatment in Behavioural Medicine: The Importance of Neurochemistry, Molecular Biology and Mechanistic Hypotheses. *The Veterinary Journal* 162(1), 9-23.

Overall, K.L., 2002. Noise phobias in dogs. *BSAVA Manual of Canine and Feline Behavioural Medicine* 164-172.

Overall, K.L., 2005. Proceedings of the Dogs Trust Meeting on Advances in Veterinary Behavioural Medicine London; 4th–7th November 2004: Veterinary behavioural medicine: a roadmap for the 21st century. *The Veterinary Journal* 169(1), 130-143.

Overall, K.L., Hamilton, S.P., Chang, M.L., 2006. Understanding the genetic basis of canine anxiety: phenotyping dogs for behavioral, neurochemical, and genetic assessment. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 1(3), 124-141.

Overall, K.L., 2010. Breed specific legislation: How data can spare breeds and reduce dog bites. *The Veterinary Journal* 186(3), 277-279.

Overall, K.L., 2011. That dog is smarter than you know: Advances in understanding canine learning, memory, and cognition. *Topics in Companion Animal Medicine* 26, 1–9.

Overall, K.L., 2015. The mismeasure of behavior: Identifying tests meaningful to the species studied. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 10(1), 1-4.

Overall, K.L., 2015. Stress and emotionality: Which definitions, which measures, which species? *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 10(2), 91-93.

Pageat, P., 1998. General psycho-psychology and nosography of behaviour disorders of dogs. In: Pageat, P., *Pathologie du comportement du chien (2ème édition)*, Editions du Point Vétérinaire. pp.43–112.

Pageat, P., 2000. *Patología del comportamiento del perro*. Pulso Ediciones S.A. España.

Papp, L., 2000. Anxiety Disorders: Somatic Treatment. In: Kaplan & Sadock's *Comprehensive Textbook of Psychiatry on CD-ROM*. 7th. ed. Lippincott Williams & Wilkins.

Paris, T., 2006. Habilidad en la obtención de la información. In: Horwitz, D., Mills, D., Heath, S. *Manual de comportamiento en pequeños animales*. Barcelona-España. pp.457.

Parmigiani, S., Palanza, P., Rodgers, J., Ferrari, P.F., 1999., Selection, evolution of behavior and animal models in behavioral neuroscience. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23, 957-970.

Pérez-Guisado, J., Muñoz-Serrano, A., 2009. Factors linked to dominance aggression in dogs. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 8, 336-342.

Pérez-Martínez, D.A., 2009. El papel del litio en el papel de las enfermedades neurodegenerativas: nuevos registros para viejos actores. *Neurología* 24, 143-146.

Pfizer. Xanax U.S. Physician Prescribing Information., 2005. http://media.pfizer.com/files/products/uspi_xanax.pdf

Pharmacia and Upjohn., 2001. Xanax product information. In: 2003 Physicians desk reference, pp.2794-2798, Montvale, New Jersey.

Picard, H., 1985. Thermalisme et oligoélément. *Presse thermale et climatique* 122 (1), 48-49.

Pierantoni, L., Albertini, M., Pirrone, F., 2011. Prevalence of owner-reported behaviours in dogs separated from the litter at two different ages. *Veterinary Record* 169(18), 468.

Pirrone, F., Pierantoni, L., Mazzola S.M, Vigo, D., Albertini, M., 2015. Owner and animal factors predict the incidence of, and owner reaction toward, problematic behaviors in companion dogs. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*. 10(4), 295–301

Pombo, M., Castro, L., Barreiro, J., 2001. El crecimiento, el desarrollo y los elementos traza. *Anales Españoles de Pediatría*. 54, 1.

Popescu, C.D., Bohotin, V., Cosmulescu, M., Ignat, B.E., 2007. Oligoelements of the cerebral arterial wall and modification of the concentration in connection with age. *Romanian Journal of Neurology*, 6-3.

Price, E.O., 1999. Behavioral development in animals undergoing domestication. *Applied Animal Behaviour Science* 65(3), 245-271.

Quiroz, J.A., Gould, T.D., Manji, H.K., 2004. Molecular effects of Lithium. *Molecular Interventions* 4,259–272.

Salzman, C., 1992, Behavioural side effects of benzodiazepines .J.M Kane, J.A Lieberman (Eds.), *Adverse Effects of Psychotropic Drugs*, Guilford Press, New York pp. 139–152.

Sánchez, A.V.M., 2010. Are vitamins and oligoelements dangerous? *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología (English Edition)* 85(2), 80-81.

Seksel, K., Lindeman, M.J., 2001. Use of clomipramine in treatment of obsessive-compulsive disorders, separation anxiety and noise phobia in dogs: a preliminary, clinical study. *Australian Veterinary Journal* 79, 252–256.

Serpell, J.A., Jagoe, J.A., 1995. Early experience and the development of behaviour. En Serpell JA (ed). *The domestic dog: Its evolution, behaviour and interactions with people*. 1st ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK.pp.79-102.

Seyle, H., 1956. *The Stress of Life*. N. Y. Mc Graw-Hill.

Sigler, L., 1991. Pet behavioral problems present opportunities for practitioners. *AAHA Trends* 4, 44-45.

Silver, J.M., Yudofsky, S.C., Hales, R.E., 1987. Neuropsychiatric aspects of traumatic brain injury. En: Hales RE, Yudofsky SC. *Textbook of Neuropsychiatry*. Washington: American Psychiatric Press 179-190.

Simpson, B.S., 2000. Canine separation anxiety. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinary North American* 22, 328–339.

Simpson, B.S., Landsberg, G.M., Reisner, I.R., Ciribassi, J.J., Horwitz, D., Houpt, K.A., Kroll, T.L., Luescher A., Moffat K.S., Douglass, G., et al., 2007. Effects of Reconcile (fluoxetine) chewable tablets plus behaviour management for canine separation anxiety. *Veterinary Therapeutics* 8, 18–31.

Sloan, J.W., Martin, W.R., Wala, E.P., 1990. Dependence-producing properties of alprazolam in the dog. *Pharmacology Biochemistry & Behavior* 35, 651–657.

Sommi, R.W., Crismon, M.L., Bowden, C.L., 1987. Fluoxetine: a serotonin-specific second generation antidepressant. *Pharmacotherapy* 7(1), 15.

Spielberger, C.D., Pollans, CH., Worden, T.J., 1984. Anxiety disorders. En S.Tuner y M. Hersen (Eds), *Adult psychopathology and diagnosis*. New York: Wiley.

Sprouse, J.S., Aghajanian, G.K., 1987. Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT1A and 5-HT1B agonists. *Synapse* 1, 3–9.

Stahl, S.M., 2009. Ansiolíticos y sedantes hipnóticos. En: *Psicofarmacología esencial. Bases neurocientíficas y aplicaciones clínicas*. 2ª ed. Editorial Ariel, S.A. Barcelona.

Storengen, L.M., Boge, S.C.K., Strom, S.J., Loberg, G., Lingaas, F. A., 2014. Descriptive study of 215 dogs diagnosed with separation anxiety. *Applied Animal Behavior Science* 10 (159), 82-89.

Stroud, L.R., Salovey, P., Epel, E.S., 2002. Sex differences in stress responses: social rejection versus achievement stress *Biological Psychiatry* 52, 318–327.

Sueda, K.L.C., Malamed, R., 2014. Canine aggression toward people: A guide for practitioners. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 44(3), 599-628.

Summers, C.H., Winberg, S., 2006. Interactions between the neural regulation of stress and aggression. *The Journal of Experimental Biology* 209, 4581–4589.

Sussman, N., 1993. Treating anxiety while minimizing abuse and dependence. *Journal Clinics of Psychiatry* 54, 44–51.

Ramírez, J., Bonete, M.J., Martínez-Espinosa, R.M., 2015. Propuesta de una nueva clasificación de los oligoelementos para su aplicación en nutrición, oligoterapia, y otras estrategias terapéuticas. *Nutrición Hospitalaria* 31(3), 1020-1033.

Rayman, M.P., 2012. Selenium and human health. *The Lancet* 379, 1256–1268.

Reisner, I.R., 1994. Use of lithium for treatment of canine dominance-related aggression: a case study. *Applied Animal Behaviour Science* 39(2), 190.

Reisner, I.R., 2002. An overview of aggression. In: Horwitz DS, Mills D, Heath S, eds. BSAVA manual of canine and feline behavioural medicine. Ames, Iowa: Iowa State Press. pp.181–194.

Reisner, I.R., 2003. Differential diagnosis and management of human-directed aggression in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 33(2), 303-320.

Reisner, I.R., Houpt, K.A., Shofer, F.S., 2005. National survey of owner-directed aggression in English Springer Spaniels. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 227, 1594-1603.

Riché, D., 1996. Pratique sportive et oligoéléments: conséquences nutritionnelles. *Science & Sports* 11(4), 211-222.

Riss, J., Cloyd, J., Gates, J., Collins, S., 2008. Benzodiazepines in epilepsy: pharmacology and pharmacokinetics. *Acta Neurologica Scandinavica* 118, 69-86.

Rojttenber, S., 2001. Depresiones y Antidepresivos. In: Editorial MPSA, editor. *Depresiones y Antidepresivos*. Argentina. pp.84-85.

Rucklidge, J.J., 2009. Successful treatment of OCD with a micronutrient formula following partial response to Cognitive Behavioral Therapy (CBT): a case study. *Journal of Anxiety Disorders* 23, 836-840.

Rucklidge, J., Taylor, M., Whitehead, K., 2011. Effect of micronutrients on behavior and mood in adults with ADHD: Evidence from an 8-week open label trial with natural extension. *Journal of Attention Disorders* 15, 79-91.

Rugbjerg, H., Proschowsky, H.F., Ersboll, A.K., Lund, J.D., 2003. Risk factors associated with interdog aggression and shooting phobias among purebred dogs in Denmark. *Preventive Veterinary Medicine* 58, 85-100.

Scott, J.P., 1974. Effects of Psychotropic-Drugs on Separation Distress in Dogs. *Journal of Pharmacologie* 5, 95.

Sherman, C. K., Reisner, I. R., Taliaferro, L. A., Houpt, K.A., 1996. Characteristics, treatment, and outcome of 99 cases of aggression between dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 47(1–2), 91-108.

Sherman, B.L., Mills, D.S., 2008. Canine Anxieties and Phobias: An Update on Separation Anxiety and Noise Aversions. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 38(5), 1081-1106.

Schrauzer, G.N., 2002. Lithium: Occurrence, dietary intakes, nutritional essentiality. *The Journal of the American Collage of Nutrition* 21(1), 14-21.

Schwartz, S., 2003. Separation anxiety syndrome in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 222, 1526-1532.

Schweizer, E., Rickels, K., Weiss, S., Zavodnick, S., 1993. Maintenance drug treatment for panic disorder: II. Short- and long-term outcome after drug taper. *Archives of General Psychiatry* 50, 61–68.

Senba, E., Ueyama, T., 1997. Stress-induced expression of immediate early genes in the brain and peripheral organs of the rat. *Neuroscience Research* 29, 183-207.

Serpell, J.A., Jagoe, A., 1995. Early experience and the development of behaviour. In: Serpell, J. (Ed). *The Domestic Dog: Its Evolution, Behaviour and Interactions with People*. Cambridge Univ. Press, Cambridge. pp.80–102.

Serpell, J.A., Hsu, Y., 2001. Development and validation of a novel method for evaluating behavior and temperament in guide dogs *Applied Animal Behavior Science* 72, 347–364.

Sieghart, W., 1995. Structure and pharmacology of γ -aminobutyric acid. A receptor subtypes. *Pharmacological Reviews* 47, 181–234.

Sieghart, E., 2003. Benzodiazepines, Benzodiazepine Receptors, and Endogenous Ligands. In: *Handbook of Depression and Anxiety Second Edition, Revised and Expanded* edited by Siegfried Kasper University of Vienna Vienna, Austria Johan A. den Boer Academic Hospital Groningen Groningen, The Netherlands J. M. Ad Sitsen Academic Hospital Utrecht Utrecht, The Netherlands.

Simpson, B.S., Landsberg, G.M., Reisner, I.R., 2007. Effects of reconcile (fluoxetine) chewable tablets plus behavior management for canine separation anxiety. *Veterinary Therapeutics*, 8, 18-31.

Sioris, K.M., Osweiler, G.D., Hovda, L.R., Brutlag, A.G., Lee, J.A., 2011, *Small Animal Toxicology*, 195-201.

Stork, C., 2006. Serotonin reuptake inhibitors and atypical antidepressants, L.R. Goldfrank, N. Flomenbaum, McGraw-Hill, New York. pp.1070-1082.

Strandberg, E., Jacobsson, J., Saetre, P., 2005. Direct genetic, maternal and litter effects on behaviour in German shepherd dogs in Sweden. *Livestock Production Science* 93, 33–42.

Takeuchi, Y., Houpt, K.A., Scarlett, J.M., 2000. Evaluation of treatments for separation anxiety in dogs *JAVMA*, 217, 342–345.

Takeuchi, Y., Ogata, N., Houpt, K.A., Scarlett, J.M., 2001. Differences in background and outcome of three behavior problems of dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 70 (4), 297-308.

Takeuchi, Y., Houpt, K.A., 2003. Behavior genetics. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 33(2), 345-363.

Takeuchi, Y., Mori, Y., 2007. A comparison of the behavioral profiles of purebred dogs in Japan to profiles of those in the United States and the United Kingdom *J. Vet. Med. Sci.*, 68 (2006), pp. 789–796. *Applied Animal Behavior Science* 103, 118–130.

Tecott, L.H., Barondes, S.H., 1996. Behavioral genetics: Genes and aggressiveness. *Current Biology* 6(3), 238–240.

Tiira, K., Lohi, H., 2015. Early life experiences and exercise associate with canine anxieties. *PLoS One*, 10 (11) doi:<http://0x.doi.org.cisne.sim.ucm.es/10.1371/journal.pone.0141907>.

Tobal, M., Cano-Vindel, A., 1990. Progresos en el tratamiento de la ansiedad. Adecuación de las técnicas terapéuticas a las características individuales. Libro de Comunicaciones del II Congreso del COP. Area 5. Psicología y Salud: Psicología de la Salud, 270-274.

Tobal, M., 1996. La ansiedad. En F.L. Ochoa (Ed). *Guías Prácticas: Psicología y bienestar*. Madrid: Aguilar.

Tornatzky, W., Miczek, K.A., 1995. Alcohol, anxiolytics and social stress in rats. *Psychopharmacology* 121, 135-144.

Torti, A., 2000. Principios de Oligoterapia. Los oligoelementos como catalizadores y la medicina funcional. *Natura Medicatrix* 58.

Travé, A.L., Reneses, A., 2002. Manejo de los fármacos en el tratamiento de la depresión. 26 (1). Dirección Internet: <http://www.msc.es/farmacia/infmedic>

Umukoro, S., Aladeokin, A.C., Eduviere, A.T., 2013. Aggressive behavior: A comprehensive review of its neurochemical mechanisms and management. *Aggression and Violent Behavior* 18(2), 195-203.

Vacalopoulos, A., Anderson, R.K., 1993. Canine behaviour problems reported by clients in a study of veterinary hospitals. *Applied Animal Behavior Science* 37, 84.

Van den Berg, L., Schilder, M.B.H., Knol, B.W., 2003. Behavior genetics of canine aggression: behavioral phenotyping of golden retrievers by means of an aggression test. *Behav. Genet.*, 33, 469–483.

Van den Berg, L., Schilder, B., de Vries, H., Leegwater, P., van Oost, B., 2006. Phenotyping of Aggressive Behavior in Golden Retriever Dogs with a Questionnaire. *Behav Genet* 36, 882-902.

Vallejo, J., 2011. *Introducción a la psicopatología y la psiquiatría*. Séptima edición. Elsevier Masson. España. pp.648.

Van Marwijk, H., Allick, G., Wegman, F., Bax, A., Riphagen, I., 2012. Alprazolam for depression. *The Cochrane database of systematic reviews* 7, 39.

Vaughan, M.E., Michael, J.L., 1982. Automatic reinforcement: an important but ignored concept *Behaviorism* 10, 217–228.

Venchikov, A.I., 1974. *Trace Element Metabolism in Animals* (Hoekstra, W.G. ed.), Vol. 2. Univ. Park Press, Baltimore, Maryland. pp. 295.

Verster, J.C, Volkerts, E.R., 2004. Clinical pharmacology, clinical efficacy, and behavioral toxicity of alprazolam: A review of the literature. *CNS Drug Reviews* 10,45–76.

Viala, R., 2013. Interet du lithium á doses modérées. *La Phytothérapie Euroéenne* 11-16.

Voith, VL., Borchelt, P.L., 1996. *Readings in Companion Animal Behavior*. New Jersey, US, American Veterinary Publications.pp.278.

Watanabe, N., Churchill, R., Furukawa, T.A., 2009. Combined psychotherapy plus benzodiazepines for panic disorder. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 21(1), 45-49.

Walsh, M.T., Dinan, T.G., 2001. Selective serotonin reuptake inhibitors and violence: A review of the available evidence. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 104, 84-91.

Weetman, A.P., McGregor, A.M., Lazarus, J.H., Rees-Smith, B., Hall, R., 1982. The enhancement of immunoglobulin synthesis by human lymphocytes with lithium. *Clinical Immunology and Immunopathology* 22, 400– 407.

Wells, D.L., Hepper, P.G., 2000. Prevalence of behaviour problems reported by owners of dogs purchased from an animal rescue shelter. *Applied Animal Behavior Science* 69, 55–65.

Whiting, P.J., 2003. GABA-A receptor subtypes in the brain: a paradigm for CNS drug discovery? *Drug Discov Today* 8, 445.

Wilensky, A.J., Levy, R.H., Troupin, A.S., Moretti-Ojemann, L., Friel, P., 1978. Clorazepate kinetics in treated epileptics. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 24, 22-30.

Wisner, TA., 2002. Accidental ingestion of alprazolam in 415 dogs. *Veterinary and Human Toxicology* 44, 22–23.

Woods, J.H., Katz, J.L., Winger, G., 1992. Benzodiazepines: use, abuse, and consequences. *Pharmacological Reviews* 44, 151–347.

Wong, D.M., Alcott, C.J., Davis, J.L., Hepworth, K.L., Wulf, L., Coetzee, J.H., 2015. Use of Alprazolam to Facilitate Mare-Foal Bonding in an Aggressive Postparturient Mare. Case report. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 29, 414-416.

Wright, J.C., Nesselrote, M.S., 1987. Classification of behaviour problems in dogs: distribution of age, breed, sex and reproductive status. *Applied Animal Behavior Science* 19, 169–178.

Yalcin, E., Batmaz, H., 2007. Signalment factors, comorbidity in behaviour diagnoses in dogs in Bursa Region, Turkey (2000-2004). *Acta Veterinaria Brunensis*. 76, 445-450.

Yilmaz, Z., Ceschi, A., Rauber-Luthy, C., 2010. Escitalopram causes fewer seizures in human overdose than citalopram. *Clinical Toxicology* 48, 207-212.

Zafir, A., Banu, N., 2007. Antioxidant potential of fluoxetine in comparison to Curcuma longa in restraint-stressed rats. *European Journal of Pharmacology* 572(1), 23-31.

Zarse, K., Terao, T., Tian, J., Iwata, N., Ishii, N., Ristow, M., 2011. Low-dose lithium uptake promotes longevity in humans and metazoans. *European Journal of Nutrition* 50, 387–389.

3. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

Los estados de ansiedad en perros son un tema de mucha importancia en la medicina veterinaria del comportamiento dada su elevada prevalencia. Debido a que la presencia de cambios significativos en la vida del animal, y las diversas situaciones que desencadenan los estados de estrés y las experiencias traumáticas, pueden alterar la homeostasis del organismo en el perro, causando trastornos en su adaptación, existe un alto impacto de los trastornos emocionales que desencadenan problemas en el bienestar de los animales e indirectamente en el bienestar de sus propietarios.

Los perros sometidos a estados de miedo frecuente y extremo, pueden ser susceptibles de desarrollar otros trastornos de comportamiento, pues no sólo desarrollan problemas directamente relacionados con la ansiedad (ansiedad por separación, ansiedad generalizada, miedos, fobias, trastornos compulsivos) sino también con los problemas de agresividad. Las conductas agresivas forman parte de un complejo sintomatológico de numerosos trastornos de comportamiento que finalmente alteran la fisiología del individuo. Y aunque en algunos casos las conductas agresivas pueden considerarse adaptativas para el animal, bajo ciertas circunstancias y contextos, la ansiedad puede exacerbar las conductas agresivas e interferir en la relación social del sujeto.

En cuanto a los trastornos agresivos, éstos son la entidad más comúnmente reportada en los perros, por lo cual estos trastornos han recibido importante atención por parte de la sociedad durante los últimos años. Por el momento existen pocas investigaciones que estudien la comorbilidad de los trastornos ansiosos y agresivos, pues a pesar del gran impacto de dichas patologías, la medición de los trastornos emocionales puede ser complicada y subjetiva.

Por otro lado, los comportamientos relacionados con la ansiedad, sobre todo las conductas agresivas, tienen un alto impacto sobre la vida del propietario, pues la mayoría de las veces estas conductas son inaceptables para ellos. Por ello, es necesario el estudio de los trastornos de ansiedad y de agresividad, con el objetivo de conocer la fisiopatología de estos trastornos, y ayudar así al desarrollo de nuevas terapias ansiolíticas que mejoren la relación del dueño con su perro. Esto finalmente, beneficiará el tratamiento de los trastornos de ansiedad de los animales de compañía y ayudará a que el propietario gestione y redirija adecuadamente los trastornos conductuales de su animal, lo que se traducirá en una disminución del estrés y la preocupación del propietario, que finalmente disminuirá los índices de abandonos y los procesos de eutanasia.

A la vista de lo anteriormente expuesto, y debido a que la mayoría de los trastornos de ansiedad que cursan con agresividad pueden ser susceptibles de intervención farmacológica, y teniendo en cuenta que las terapias farmacológicas y complementarias permiten desarrollar adecuadamente los planes de modificación de conducta propuestos, planteamos la siguiente *HIPÓTESIS* de trabajo:

La combinación de agentes farmacológicos tales como las benzodiazepinas (alprazolam o clorazepato dipotásico) y el clorhidrato de fluoxetina, y el uso de oligoelementos como el gluconato de litio, permiten disminuir los estados de ansiedad que cursan con o sin agresividad en los perros, permitiendo realizar el plan de modificación de conducta adecuadamente, lo que incrementa la satisfacción y cumplimiento de la terapia por parte del propietario.

Por otro lado, sabiendo que la utilización de un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS) (fluoxetina) permite el control de los signos psíquicos de la ansiedad, y conociendo que las benzodiazepinas son más efectivas en el tratamiento de los signos somáticos de los trastornos ansiosos, en este estudio se plantearon los siguientes objetivos:

Conocer qué tipo de benzodiazepina (alprazolam o clorazepato dipotásico) se comporta mejor al utilizarla en un protocolo de terapia combinada con un ISRS (fluoxetina) y un plan de modificación de conducta, en el tratamiento de los trastornos de ansiedad en perros.

Comparar una terapia farmacológica convencional ansiolítica con una terapia complementaria (oligoterapia) utilizando el gluconato de litio, para conocer qué terapia ofrece mejores resultados frente a los trastornos de ansiedad acompañados o no de signos de agresividad en perros.

Conocer la relación existente entre las mejorías encontradas en los signos de ansiedad y de agresividad, y la satisfacción y cumplimiento del propietario con la terapia propuesta.

4. MATERIALES Y METODOS

En los tres estudios experimentales realizados, se utilizaron perros de diferentes razas con edades comprendidas entre los 8 meses y 7 años de edad. A todos los animales se les realizó un examen físico-clínico completo con el objetivo de establecer su estado de salud y condición corporal. Todos los propietarios de los animales incluidos en el estudio, reportaron como motivo de consulta la presencia de signos de ansiedad acompañada o no de conductas agresivas en su perro (signos de inquietud, tensión muscular, vocalización extrema, hiperactividad, apego, respuestas de huida, falta de atención, nerviosismo, temblores y constante estado de alerta). Como criterios de exclusión los animales del estudio no debían presentar ninguna tipo de patología médica, estar en estado de preñez o lactación, y no debían haber recibido previamente medicación ansiolítica, ni ninguna terapia de modificación conductual cuatro semanas previas al tratamiento.

Todos los animales del estudio fueron divididos en dos categorías diagnósticas, perros ansiosos con agresividad y perros ansiosos sin agresividad. Los procedimientos realizados con los animales, estuvieron de acuerdo con la legislación nacional española y europea de protección animal (directiva 86/609/EEC, Real Decreto 53/2013) y los propietarios fueron informados estando de acuerdo con participar en el estudio. Se llevaron a cabo tres trabajos de investigación diferentes que se desarrollaron tal y como se explica a continuación.

4.1. Trabajo de investigación 1

Treinta y seis perros diagnosticados con una variedad de trastornos del comportamiento fueron incluidos en este estudio (Tabla 8), de los cuales 13 eran hembras y 23 machos (todos enteros). Con edades comprendidas entre 8 meses y 7 años. Veinte nueve razas distintas estuvieron representadas, y siete animales fueron mestizos. Los perros fueron evaluados en el centro de comportamiento animal de la Universidad Complutense de Madrid, y su historia clínica y de comportamiento se obtuvo a través de un cuestionario estandarizado (Overall, 1997) (Ver Anexo 1).

Los perros que participaron en el estudio mostraron una amplia variedad de trastornos, los que incluían agresividad estaban representados por: agresividad por miedo, agresividad por dominancia, agresividad relacionada con la comida, y agresividad entre perros. Por otro lado, la ansiedad por separación, ansiedad generalizada, miedos, fobias, y trastornos compulsivos involucraron los estados de ansiedad.

Una vez realizada la consulta de comportamiento, por los especialistas en conducta animal, se dividió a los animales en 2 categorías: 1. perros ansiosos con agresividad (n=12) y 2. perros ansiosos sin agresividad (n=24). A su vez los 36 perros fueron divididos en dos grupos de edad (jóvenes <3 años, n=20; adultos ≥ 3 años, n= 16) y en dos grupos según su sexo (13 hembras; 23 machos).

Tabla 8. Detalles clínicos de treinta y seis perros tratados por estados de ansiedad.

Caso	Sexo	Edad (meses)	Tipo de trastorno	Categoría diagnóstica	
1	M	12	Vocalización, destructividad	AS	NAgresivo
2	M	40	Agresividad	AGG	Agresivo
3	H	12	Nerviosismo, EI	AG	NAgresivo
4	M	13	Nerviosismo, miedo a ruidos	FR	NAgresivo
5	H	20	Vocalización, EI	AS	NAgresivo
6	M	14	Agresividad	AGG	Agresivo
7	H	36	Vocalización, destructividad	AS	NAgresivo
8	M	12	Nerviosismo, destructividad	AG	NAgresivo
9	M	15	Agresividad	AGG	Agresivo
10	M	24	Destructividad, nerviosismo, vocalización	AS	NAgresivo
11	M	42	Destructividad, nerviosismo	AG	NAgresivo
12	H	24	Vocalización, destructividad	AS	NAgresivo
13	M	8	Agresividad	AGG	Agresivo
14	M	14	Destructividad, vocalización	AS	NAgresivo
15	M	12	Nerviosismo	AG	NAgresivo
16	M	18	Vocalización	AG	NAgresivo
17	M	12	Destructividad, vocalización	AS	NAgresivo
18	M	36	Nerviosismo, destructividad	AG	NAgresivo
19	M	36	Agresividad	AGG	Agresivo
20	M	44	Agresividad	AGG	Agresivo
21	M	15	Agresividad	AGG	Agresivo
22	H	54	Vueltas sobre sí mismo	DC	NAgresivo
23	H	12	Vocalización, EI	AS	NAgresivo
24	H	15	Vocalización, destructividad	AS	NAgresivo
25	M	13	Nerviosismo, destructividad	AG	NAgresivo
26	M	36	Agresividad	AGG	Agresivo
27	M	18	Nerviosismo, vocalización, destructividad	AS	NAgresivo
28	M	24	Miedo, vocalización, destructividad	AG	NAgresivo
29	H	84	Agresividad	AGG	Agresivo
30	H	36	Agresividad	AGG	Agresivo
31	M	48	Agresividad	AGG	Agresivo
32	H	42	Agresividad	AGG	Agresivo
33	H	38	Miedo, vocalización	FR	NAgresivo
34	M	36	Destructividad, EI	AG	NAgresivo
35	H	40	Nerviosismo, miedo	AG	NAgresivo
36	H	52	Vocalización, nerviosismo	AG	NAgresivo

M, macho; H, hembra; EI, eliminación inapropiada; AGG, agresión; AS, ansiedad por separación; AG ansiedad generalizada; DC, desorden compulsivo; FR fobia a ruidos; Agresivo, perro ansioso con agresividad; NAgresivo, perro ansioso sin agresividad.

4.1.1. Tratamiento farmacológico

Todos los perros recibieron clorazepato dipotásico vía oral a dosis de 1.0 mg/kg cada 24 h durante 4 semanas (Dodman y Shuster, 2000; Overall, 2001) junto con clorhidrato de fluoxetina, la cual fue administrada vía oral a dosis de 1.0 mg/kg durante 10 semanas. Dichos medicamentos se administraron simultáneamente.

4.1.2. Plan de modificación de conducta

El mismo día tras comenzar con el tratamiento farmacológico, se prescribió un plan de modificación de conducta (Overall, 2001; Ibáñez y Ánzola, 2009). El plan comprendía tres etapas complementarias diseñadas para detener comportamientos no deseados y recompensar comportamientos deseados. En la primera fase, se les pidió a los propietarios que no recompensaran de forma involuntaria los comportamientos no deseados. En la segunda fase, se les pidió que siguieran un programa de modificación de conducta pasivo, diseñado para enseñar al perro a sentarse en silencio, mirar a la persona con quien quisiera interactuar, y esperar a las señales. Si el comportamiento apropiado se llevaba a cabo, debía ser recompensado. Los perros recibieron entrenamiento de obediencia básica para incrementar su confianza y mejorar la comunicación entre el perro y el propietario. Esta etapa incluyó: (1) recompensar los comportamientos relajados; (2) eliminar el refuerzo no intencional de los comportamientos ansiosos tranquilizando o acariciando al perro cuando mostraba signos clínicos de miedo o ansiedad; (3) implementar una rutina de comida y horarios de juego; y finalmente (4) dedicar 20 minutos al día en cuatro sesiones (de 5 minutos cada una) a jugar, o interactuar activamente con el perro. Finalmente en la tercera fase, se le pidió a los dueños que comenzaran el plan de modificación de conducta activo, el cual está diseñado para enseñar al perro a relajarse y recompensarlo con comida o juego (Overall, 2001), (anexo 2).

4.1.3. Evaluación en la mejoría de los signos

Los efectos de este tratamiento fueron evaluados desde el comienzo hasta la décima semana de tratamiento. Se recogió información suministrada por los propietarios en los días 14, 42 y 70 de tratamiento (períodos 1, 2 y 3 respectivamente). Dicha información fue

recolectada por veterinarios, los cuales fueron entrenados para recoger la información sin conocimiento previo de las respuestas del perro a la terapia.

Los resultados se catalogaron como: 1, empeoraron (E); 2, sin cambios (SC); 3, ligera mejoría (LM); 4, mejoría moderada (MM); y 5, gran mejoría o eliminación (GM). Durante el período de seguimiento, los propietarios de los perros fueron preguntados acerca de su conformidad con el programa de tratamiento planteado. Al final de cada período (días 14, 42 y 70), se les hizo una serie de preguntas estándar para discutir el progreso del tratamiento y su conformidad con la terapia. El cumplimiento del propietario fue evaluado como: 1, inadecuado; 2, variable; 3, bueno; y 4, excelente (Seksell y Lindeman, 2001).

4.1.4. Análisis Estadístico

Los datos no tuvieron una distribución normal, por lo tanto fueron analizados utilizando pruebas no paramétricas. Los valores obtenidos durante cada período de tratamiento (períodos 1, 2 y 3) fueron comparados mediante la prueba de suma de rangos de Wilcoxon. Posteriormente se utilizó la prueba de coeficientes de correlación de Spearman para determinar la interacción entre la conformidad del propietario y las mejorías encontradas en cada período de tratamiento. Todos los análisis se realizaron mediante el software SAS (SAS, 1999).

4.2. Trabajo de investigación 2

Inicialmente, 40 perros diagnosticados con problemas de ansiedad participaron en el estudio. Sin embargo, cinco de ellos fueron retirados entre el inicio y las 6 primeras semanas del tratamiento, debido a que los dueños no aportaron ningún tipo de información durante los seguimientos.

En la muestra final $n=35$ (19 machos y 16 hembras) se diagnosticaron una serie de trastornos del comportamiento relacionados con la ansiedad. Los detalles clínicos que permitieron el diagnóstico se presentan en la Tabla 9. Gran variedad de razas estuvieron representadas y la edad de los perros estuvo comprendida entre los 9 meses y los 6 años.

Posteriormente veterinarios especialistas en etología clínica realizaron un cuestionario durante la consulta de comportamiento (ver anexo 1), con el objetivo de corroborar el motivo de consulta relacionado con alteraciones ansiosas. Dichas alteraciones podían o no estar

relacionadas con agresividad, aunque los signos de ansiedad siempre debían estar presentes. (Inquietud, tensión muscular, vocalización extrema, hiperapego, respuestas de huida, falta de atención, nerviosismo, temblores y constante estado de alerta).

Una vez realizado el diagnóstico del proceso ansioso, los perros fueron agrupados en dos categorías: perros ansiosos con agresividad (n=15) y perros ansiosos sin agresividad (n=20). Los trastornos de ansiedad estuvieron representados por patologías como: ansiedad por separación, miedos, ansiedad generalizada, miedo a ruidos, trastornos compulsivos y miedo a otros perros. Por otra parte, los trastornos de agresividad se representaron en la agresividad posesiva, por miedo, durante el juego, por dominancia y entre perros (Tabla 9).

Tabla 9. Detalles clínicos de treinta y cinco perros tratados por estados de ansiedad.

Caso	Sexo	Edad (meses)	Motivo de consulta	Tipo de trastorno	Categoría diagnóstica
1	M	9	Destructividad, eliminación inapropiada	AS	NAgresivo
2	H	16	Miedo, respuestas de escape	Miedo	NAgresivo
3	H	24	Nerviosismo, destructivo al quedarse solo	AS	NAgresivo
4	M	15	Nerviosismo, vocalización	AG	NAgresivo
5	M	12	Vocalización, destructivo al quedarse solo	AS	NAgresivo
6	M	30	Agresividad, miedo a extraños	AGG por miedo	Agresivo
7	M	36	Destructividad, eliminación al quedarse solo	AS	NAgresivo
8	M	36	Agresividad con los propietarios	AGG por dominancia	Agresivo
9	M	12	Agresividad con los propietarios	AGG por juego	Agresivo
10	H	24	Agresividad, miedo a extraños	AGG por miedo	Agresivo
11	H	22	Destructividad, nerviosismo	AG	NAgresivo
12	H	72	Miedo a ruidos, respuestas de escape, eliminación	MR	NAgresivo
13	H	48	Agresividad a los propietarios	AGG por dominancia	Agresivo
14	M	60	Agresividad a extraños	AGG por miedo	Agresivo
15	H	66	Agresividad a los propietarios	AGG por dominancia	Agresivo
16	M	30	Agresividad a los propietarios	AGG por miedo	Agresivo
17	H	42	Agresividad a extraños	AGG por miedo	Agresivo
18	M	60	Agresividad a otros perros machos	AGG entre perros	Agresivo
19	M	24	Agresividad a los propietarios	AGG por dominancia	Agresivo
20	M	30	Nerviosismos, destructividad	AG	NAgresivo
21	H	62	Vocalización, destructividad al quedarse solo	AS	NAgresivo
22	M	16	Vueltas sobre sí mismo	DC	NAgresivo
23	H	10	Vocalización, nerviosismo	AG	NAgresivo
24	H	72	Miedo a ruidos y respuestas de escape	MR	NAgresivo
25	H	42	Nerviosismo, destructividad	AG	NAgresivo
26	H	48	Nerviosismo, vocalización	AG	NAgresivo
27	M	60	Vocalización al quedarse solo	AS	NAgresivo
28	H	36	Vocalización, destructividad al quedarse solo	AS	NAgresivo
29	H	27	Vocalización, destructividad al quedarse solo	AS	NAgresivo
30	M	24	Vocalización, eliminación al quedarse solo	AS	NAgresivo
31	M	10	Agresividad, miedo a extraños	AGG por miedo	Agresivo
32	M	11	Agresividad con los propietarios	AGG por dominancia	Agresivo
33	M	48	Agresividad con los propietarios	AGG por dominancia	Agresivo
34	H	36	Agresividad, miedo a extraños	AGG por miedo	Agresivo
35	M	13	Miedo a perros, respuestas de escape	Miedo a perros	NAgresivo

M = Macho; H = Hembra; AS = Ansiedad por separación; AG = Ansiedad generalizada; DC = Desorden compulsivo, AGGd = Agresividad por dominancia; AGGj = Agresividad por juego; AGGm = Agresividad por miedo; AGGp = Agresividad entre perros; MR = Miedo a ruidos; MP = Miedo a perros; NAgresivo = Perro ansioso con agresividad; Agresivo = Perro ansioso sin agresividad

4.2.1. Tratamiento Farmacológico y plan de modificación de conducta

Los perros recibieron alprazolam vía oral a una dosis de 0.07mg/kg, una vez al día durante 4 semanas. Simultáneamente se administró clorhidrato de fluoxetina a dosis de 1.0 mg/kg vía oral cada 24h durante 10 semanas. Estas dosis no variaron en ningún momento a lo largo del tratamiento.

Todos los perros recibieron el mismo plan de modificación de conducta. Lo que a su vez permitió un entrenamiento básico de obediencia para mejorar la confianza y la relación con el propietario. El plan de modificación conductual comenzó el primer día después de la evaluación del problema de comportamiento acompañando al tratamiento farmacológico. Dicho plan cuenta con tres fases complementarias entre sí, cuyo objetivo es ignorar las conductas no deseadas y recompensar los comportamientos deseados incompatibles con estados ansiosos. El plan de modificación de conducta utilizado, fue el mismo descrito en el trabajo de investigación 1 (Overall, 2001; Ibáñez y Ánzola, 2009).

4.2.2. Evaluación en la mejoría de los signos

Al igual que en el trabajo de investigación 1, en este estudio, se realizó el seguimiento de las conductas de todos los perros incluidos en la terapia, la información fue recogida por veterinarios durante los días 14, 42 y 70 de tratamiento (período 1, 2 y 3 respectivamente). Las mejorías reportadas se clasificaron como: 1, empeoraron (E); 2, sin cambios (SC); 3, ligera mejoría (LM); 4, mejoría moderada (MM); y 5, gran mejoría o eliminación (GM). Igualmente los propietarios fueron indagados acerca de su conformidad con el programa de tratamiento establecido, de manera que el cumplimiento por parte del propietario se clasificó como: 1, inadecuado; 2, variable; 3, bueno; o 4, excelente (Seksell y Lindeman, 2001).

4.2.3. Análisis Estadístico

Los datos no siguieron una distribución normal por lo que fueron analizados utilizando pruebas no paramétricas. Los valores obtenidos durante cada período fueron comparados con el test de suma de rangos de Wilcoxon y posteriormente se aplicó la prueba de correlación de Spearman para determinar las interacciones entre el cumplimiento del propietario y las mejorías encontradas, durante cada período de tratamiento. Todos los análisis fueron realizados mediante el software SAS (SAS, 1999).

4.3. Trabajo de investigación 3

En el estudio se incluyeron 140 perros de diferentes razas, edades (entre 8 meses y 7 años) y sexos. De estos animales 135 finalizaron el estudio debido a que 5 se tuvieron que descartar por problemas médicos imposibilitando así la obtención de datos.

Después de pasar la consulta de comportamiento y obtener el historial clínico, el diagnóstico se realizó en base a una evaluación del comportamiento (ver anexo 1) y un examen veterinario completo. Se fueron incluyendo en el estudio aquellos animales que presentaban algún tipo de desorden relacionado con ansiedad acompañado o no de signos de agresividad.

La muestra de 135 animales que participaron en el estudio, se dividió en dos categorías diagnósticas: perros ansiosos con agresividad ($n = 53$) y perros ansiosos sin agresividad ($n = 82$) (Tabla 10). De estos animales 54 fueron hembras y 81 machos; 52 jóvenes y 83 adultos y 81 animales enteros y 54 castrados.

Una gran variedad de desórdenes de ansiedad que incluyeron algún tipo de agresividad estuvieron representados, (agresividad por miedo, agresividad por dominancia y agresividad entre perros). Igualmente la ansiedad por separación, la ansiedad generalizada y reactividad a ruidos estuvieron presentes en los desórdenes de ansiedad sin signos de agresividad. Una vez hecha la división por categorías, según la presencia o no de agresividad en los estados de ansiedad presentes en los animales del estudio, estos fueron divididos en 3 grupos de tratamiento, (T1, T2 y TC) elegidos al azar, de 45 perros cada uno.

El grupo T1 recibió un tratamiento con gluconato de litio, el grupo T2 un tratamiento de una combinación de psicofármacos (alprazolam - clorhidrato de fluoxetina) y el tercer grupo (TC) se tomó como grupo control, no recibiendo ningún otro tratamiento más que el plan de modificación de conducta (PMC).

Tabla 10. Número de animales distribuidos por desorden de ansiedad, sexo, edad y estado reproductivo en función del grupo de tratamiento (T1, T2 y TC).

	C	Total		T1		T2		TC	
		(n=135)	(%)	(n= 45)	(%)	(n=45)	(%)	(n=45)	(%)
DA	Agg	53	39.26	21	46.67	14	31.11	18	40.00
	Nagg	82	60.74	24	53.33	31	68.89	27	60.00
Sex	H	54	40.00	14	31.11	24	53.33	16	35.56
	M	81	60.00	31	68.89	21	46.67	29	64.44
Ed	J	52	38.52	16	35.56	19	42.22	17	37.78
	A	83	61.48	29	64.44	26	57.78	28	62.22
ER	Ent	81	60.00	26	57.78	33	73.33	22	48.89
	Cast	54	40.00	19	42.22	12	26.67	23	51.11

DA= Desorden de ansiedad; Sex= Sexo de los perros; Ed= Edad de los perros; ER= Estado reproductivo; Agg= Perros ansiosos con agresividad; Nagg= Perros ansiosos sin agresividad; H= hembra; M= Macho; J= Jóvenes; A= Adultos, Ent= Perros enteros; Cast= Perros castrados; C= Categoría T1= Tratamiento con litio; T2= Tratamiento con alprazolam-fluoxetina; TC= control.

4.3.1. Tratamiento farmacológico y plan de modificación de conducta

El primer grupo de perros (T1) recibió, una ampolla de 2ml de gluconato de litio vía oral tres veces al día durante 10 semanas. Los perros del segundo grupo (T2) recibieron alprazolam vía oral a dosis de 0.07 mg/kg cada 24h durante las primeras 4 semanas y clorhidrato de fluoxetina, a dosis de 1.00 mg/kg vía oral cada 24 h durante todo el tratamiento (10 semanas). Los grupos T1 y T2, recibieron simultáneamente la aplicación por parte de los propietarios de un PMC descrito por Overall *et al.*, (2001) y modificado por Ibáñez y Ánzola (2009). El grupo control (TC) no recibió ningún tratamiento, pero durante las 10 semanas del estudio los propietarios implementaron el mismo plan de modificación de conducta indicado anteriormente.

4.3.2. Evaluación en la mejoría de los signos

La información acerca de la mejoría en los signos clínicos fue recolectada en la consulta con los propietarios de los perros al finalizar cada período de tratamiento: período 1 (día 14), período 2 (día 42) y período 3 (día 70). La información suministrada por los propietarios, fue recolectada por veterinarios colaboradores, quienes fueron entrenados previamente para dicha labor y no estaban familiarizados con las respuestas del animal al tratamiento. Igualmente los propietarios fueron preguntados acerca de la satisfacción con el plan de tratamiento implementado. Las mejorías encontradas en los signos clínicos se clasificaron como: 5 (empeoraron) (E), 4 (sin cambios) (SC), 3 (ligera mejoría) (LM), 2 (mejoría moderada) (MM) y 1 (gran mejoría o eliminación) (GM). La conformidad y cumplimiento del propietario fue evaluada como: 4 (inadecuado), 3 (variable), 2 (bueno) y 1 (excelente).

4.3.3. Análisis Estadístico

Al igual que en los anteriores trabajos, los datos no tuvieron distribución normal y se analizaron mediante pruebas no paramétricas. Las mejorías obtenidas para cada período de tratamiento (período 1, 2 y 3) se compararon mediante la prueba de suma de rangos de Wilcoxon. La prueba de Spearman se utilizó para determinar la correlación existente entre el cumplimiento por parte de los propietarios y las mejorías encontradas en cada período de tratamiento. Todas las pruebas se realizaron mediante el software SAS (SAS, 1999).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Trabajo de investigación 1

5.1.1. Resultados

Los resultados diagnósticos obtenidos a partir de los signos clínicos de los 36 perros tratados por estados de ansiedad se presentan en la tabla 8. En 12 perros, el principal motivo de consulta fue la agresividad, la cual incluyó agresividad y miedo a extraños fuera y dentro de la casa, agresividad hacia el propietario cuando se acercaba mientras el animal descansaba, agresividad hacia el propietario mientras el perro comía, y agresividad hacia otros perros en el parque o fuera de casa.

Con base a los signos clínicos observados, las circunstancias, y el objetivo de dicho comportamiento, esos 12 perros se clasificaron de la siguiente manera: agresividad por miedo (principalmente presentando quejas de eliminación inapropiada, chasquidos, gruñidos, e intentos de escape; n=5), agresividad por dominancia (presentando principalmente ladridos, gruñidos y mordiscos hacia los dueños cuando miraban al perro, le perturbaban mientras dormían o cuando le corregían verbalmente; n=4), agresividad entre perros (cuando presentaban ladridos, gruñidos o mordiscos hacia otros perros; n=2) y agresividad relacionada con la comida (cuando gruñían, elevaban el labio superior, o mordían cuando se les acercaba alguien mientras comían; n=1).

Se diagnosticaron trastornos relacionados con la ansiedad en los 24 perros no agresivos; 10 de los 24 fueron diagnosticados con ansiedad por separación (nerviosismo, miedo, vocalización, comportamiento destructivo y eliminación inapropiada); estos signos se manifestaban cuando los propietarios no estaban presentes. Se diagnosticó ansiedad generalizada en 11 perros (nerviosismo, eliminación inapropiada, vocalización, miedos, y destructividad). Se diagnosticó con miedo a los ruidos a 2 perros (miedo a ruidos, nerviosismo y vocalización) y finalmente se diagnosticó con trastorno compulsivo a un perro que daba vueltas en círculos sobre sí mismo (Tabla 8).

Los perros ansiosos con agresividad mostraron una mejoría más significativa que los perros ansiosos sin agresividad al final del período 3 de tratamiento (70 días tras el comienzo de la terapia; $P=0.04$) (Tabla 11). Se observaron diferencias significativas ($P<0.05$) en las mejorías de los perros entre los períodos 2 y 1 (D1) y entre los períodos 3 y 1 (D3) ($P<0.01$).

Por otro lado, no hubo diferencias significativas ($P>0.05$) entre machos y hembras, o entre jóvenes y adultos.

Tabla 11. Comparación de los efectos del tratamiento sobre los signos de ansiedad, edad, sexo y estado reproductivo de los grupos estudiados, en cada período. Diferencia entre los períodos y cumplimiento del cliente.

	Agresivo (n=12)	NAgresivo (n=24)	P	J (n=20)	A (n=16)	P	M (n=23)	H (n=13)	P
Período 1	2.9	2.8	0.60	2.7	3.0	0.21	2.9	2.7	0.64
Período 2	2.6	3.3	0.09	3.0	3.1	0.79	3.1	3.3	0.20
Período 3	2.5	3.5	0.04	3.1	3.2	0.80	3.2	3.5	0.13
D1	-0.3	0.5	0.04	0.4	0.1	0.58	0.0	0.6	0.17
D2	-0.1	0.2	0.06	0.1	0.1	0.82	0.0	0.2	0.19
D3	-0.4	0.7	0.01	0.5	0.2	0.45	0.0	0.8	0.06
Cump	2.8	3.3	0.27	3.2	3.2	0.83	3.0	3.5	0.32

Agresivo= Perro ansioso con agresividad; NAgresivo= Perro ansioso sin agresividad; J= Jóvenes; A= Adultos Cump, cumplimiento de los propietarios con el plan de modificación de conducta; P= p valor D1, diferencias de las mejorías entre el período 2 y 1; D2, diferencia de las mejorías entre el período 3 y 2; D3, diferencias de las mejorías entre el período 3 y 1.

De los 36 perros estudiados, el 13.39% mostraron grandes mejorías o resolución clínica. Además, el 25.00% de los perros mostraron mejoría moderadas y el 30.56% tuvieron ligeras mejorías. No se observó ningún cambio en el 22.22% de los perros y se tuvo un 8.33% de perros que empeoraron. Del grupo de perros agresivos, 50% mejoraron, 25% empeoraron, y otro 25% no mostró ningún cambio. Aproximadamente el 80% de los perros con estados de ansiedad mostraron algún tipo de mejoría, el 20% no mostraron cambios, y ninguno de ellos empeoró (Tabla 12).

Tabla 12. Respuestas clínicas según categoría diagnóstica en perros tratados con fluoxetina, clorazepato y terapia de modificación de conducta.

	GM	MM	LM	SC	E	Total
Agresivo	0	3	3	3	3	12
NAgresivo	5	6	8	5	0	24
Total	5	9	11	8	3	36
%	13.39	25.00	30.56	22.22	8.33	100

GM, gran mejoría; MM, moderada mejoría; LM, ligera mejoría; SC, sin cambios; E, empeoramiento; Agresivo, perro ansioso con agresividad; NAgresivo, perro ansioso sin agresividad.

En la Tabla 12 se presenta la respuesta clínica para cada uno de los tipos de trastornos diagnosticados. El 50% de los perros con agresividad mostraron mejorías moderadas o ligeras, sin embargo, el 25% empeoró. También observamos que el 80% de los perros con agresividad por miedo mejoraron, mientras que los perros con otros tipos de agresividad

empeoraron (Tabla 13). En el grupo de los perros ansiosos sin agresividad, observamos mejoría en todas las categorías de comportamiento.

Tabla 13. Respuesta clínica según tipo de desorden en los perros tratados con fluoxetina, clorazepato, y terapia de modificación de conducta.

	GM		MM		LM		SC		E	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
AGGm	0	0	3	60	1	20	0	0	1	20
AGGd	0	0	0	0	1	25	2	50	1	25
AGGc	0	0	0	0	0	0	0	0	1	100
AGGp	0	0	0	0	1	50	1	50	0	0
AGGT	0	0	3	25	3	25	3	25	3	25
AS	2	20	4	40	0	0	4	40	0	0
AG	2	18	1	9	7	63	1	9	0	0
FR	1	50	1	50	0	0	0	0	0	0
DC	0	0	0	0	1	100	0	0	0	0
AGGT	5	14	9	25	11	30	8	22	3	8

AGGm= Agresividad por miedo; AGGd=Agresividad por dominancia; AGGc= Agresividad relacionada con la comida; AGGp=Agresividad entre perros; AGGT= Total de agresivos AS= Ansiedad por separación; AG=Ansiedad generalizada; DC =Desorden compulsivo; FR= Fobia a ruidos; GM=Gran mejoría; MM =Moderada mejoría; LM = Ligera mejoría; SC = Sin cambios; E= empeoramiento.

Los coeficientes de correlación de Spearman mostraron una correlación moderada entre el cumplimiento de los propietarios y las instrucciones del tratamiento propuesto, pues las mejorías obtenidas durante el período 1 fueron significativas $P=0.03$; $r=0.36$ (Tabla 14). Igualmente se obtuvo correlación significativa ($P < 0.0001$) durante los períodos 2 ($r = 0.76$) y 3 ($r = 0.79$).

Tabla 14. Prueba de Spearman, correlación entre las mejorías encontradas y el cumplimiento del propietario.

	ME (n=36)	Cump (n=36)	r	P
Período 1	2.81	3.11	0.36	0.03
Período 2	3.28	3.19	0.76	< 0.0001
Período 3	3.14	3.17	0.79	< 0.0001

ME= Mejorías encontradas; Cump= cumplimiento de los propietarios; P= p valor

5.1.2. Discusión

Se observó mejoría en 25 de los 36 (69.44%) perros que completaron el estudio (ver tabla 12). Los veterinarios y los propietarios de los perros valoraron la mejoría, la cual fue definida como la eliminación o reducción de los comportamientos anormales a un nivel aceptable por los propietarios. Estos hallazgos coinciden con estudios realizados por (Dodman *et al.*, 1996; Fuller, 1996; Seskel y Lindeman, 2001). La terapia aplicada durante el período 1 de

estudio produjo buenos resultados. Aunque hubo diferencias significativas durante este período cuando el clorazepato se combinó con fluoxetina ($P=0.03$) (Tabla 14). Encontramos mejorías más pronunciadas durante los períodos 2 y 3, cuando sólo se administró fluoxetina ($P<0.0001$), (días 42 y 70) lo cual podría significar que la capacidad del clorazepato para controlar la ansiedad fue más limitada que la de la fluoxetina (Tabla 14). Sospechamos posiblemente que se habría observado mayor mejoría en los signos clínicos si el clorazepato se hubiera administrado con mayor frecuencia (por ejemplo, cada 12h).

El plan de modificación de conducta es una herramienta terapéutica que, en muchos casos, requiere el uso de medicamentos ansiolíticos para producir buenos resultados, por lo cual, el uso de la terapia combinada produce mayores resultados que cuando solo se utiliza una terapia (Reisner, 2006). En nuestro estudio, esto se corrobora ya que el uso de terapia combinada produjo una mejoría en el 69% de los perros evaluados (Tabla 12).

Las mejorías en el comportamiento observadas en los días 42 y 70 (períodos 2 y 3) de la terapia pudieron ser debidas a los efectos de la fluoxetina, la modificación de conducta, o la combinación de ambas. Por ello es necesario revisar estudios realizados únicamente con terapia de modificación de conducta, y estudios donde sólo se administre fluoxetina, para corroborar por separado cuál de ellos produce mayor mejoría en los signos de ansiedad en perros (Dodman y Shuster, 2000). Sin embargo, se puede utilizar clorazepato unido a la fluoxetina para lograr el efecto ansiolítico mientras que la fluoxetina comienza su efecto terapéutico (4-5 semanas) para los estados de ansiedad. Por ello en nuestro estudio tras la cuarta semana de tratamiento se suspendió la administración de clorazepato dipotásico, tal como lo cita Dodman y Shuster (2000). Crowell-Davis y Murray (2006) informaron que aunque las benzodiazepinas algunas veces disminuyen las conductas agresivas, su uso a veces resulta en un incremento de la agresividad. Por otro lado, Landsberg *et al* (2003) consideraron que las benzodiazepinas podrían ser consideradas para el tratamiento de cualquier condición que tenga un componente de miedo o ansiedad, incluyendo la agresividad por miedo. Sin embargo, también informaron que las benzodiazepinas, pueden causar desinhibición en el comportamiento, lo que podría conllevar a un aumento de la agresividad. En nuestro estudio tres de los perros pertenecientes a la categoría de ansiedad con agresividad mostraron empeoramiento en los signos (Tabla 12), y otros tres perros no mejoraron, al no mostrar cambio alguno. El empeoramiento de la agresividad pudo deberse a factores que no podían ser controlados, tales como estímulos ambientales, los cuales no

fueron percibidos por los propietarios, o por una aplicación errónea del plan de modificación de conducta por parte del propietario.

Por otro lado, no fue posible estudiar si el uso del clorazepato tiene relación con el aumento de la agresividad relacionada con la ansiedad en los perros de este estudio. Aunque en estudios previos con otra benzodiazepina (diazepam) utilizada en combinación con fluoxetina y un plan de modificación de conducta, no se observó ningún caso de desinhibición en la conducta, que pudiera haber llevado a la aparición de signos de agresividad (Ibáñez y Ánzola, 2009). En este estudio esto no fue posible, debido a que los propietarios no suministraron datos que permitiesen corroborar procesos de desinhibición de la conducta agresiva.

Los resultados de esta investigación indican que la efectividad del tratamiento investigado depende de la categoría de comportamiento (perros ansiosos sin agresividad o perros ansiosos con agresividad). Se observó mayor mejoría en los signos clínicos de los perros no agresivos que en los perros ansiosos agresivos (Tabla 12). Las diferencias significativas reportadas entre los grupos de perros ansiosos no agresivos y perros ansiosos agresivos en el período 3, sugieren que está terapia podría ser más efectiva para los perros ansiosos sin agresividad que para los perros ansiosos agresivos (Tabla 11). Este hallazgo concuerda con los resultados de los estudios realizados por Crowell-Davis (2008), quienes informaron que el uso de benzodiazepinas está contraindicado como tratamiento de primera línea en casos de agresividad.

El tratamiento evaluado en este estudio llevó a la disminución en la aparición de síntomas clínicos de ansiedad en 19 de 24 de los perros no agresivos (Tabla 12). El número de perros en el grupo con ansiedad por separación fue relativamente alto ($n=10$) (Tabla 13) y el tratamiento con clorazepato produjo grandes y moderadas mejorías en este trastorno, tal como otros autores también lo han demostrado (Neilson, 2002).

Los resultados de este estudio muestran una correlación moderada ($r = 0.36$); ($P = 0.03$), entre el cumplimiento por parte de los propietarios con el tratamiento y las mejorías de los signos clínicos durante el período 1 de tratamiento, sin embargo las correlaciones fueron más significativas en los períodos 2 y 3 ($P < 0.0001$), (Tabla 14). Estos resultados indican que los propietarios de los perros cumplieron con el plan de tratamiento propuesto durante el período en el que se administró el clorazepato. El bajo nivel de conformidad de los dueños durante

el período 1 podría haber sido mayor con un incremento en la dosis o en la frecuencia de administración del clorazepato, lo que tal vez hubiera producido resultados más favorables al disminuir la ansiedad, lo que finalmente hubiera facilitado la atención y aprendizaje del plan de modificación de conducta, con el aumento de la satisfacción del propietario. Sin embargo, autores como Overall (2011) plantean que el mejor plan de administración para las benzodiacepinas se determina por ensayo y error (Overall, 2011).

Aunque lo ideal es la resolución completa de los problemas del comportamiento, esto puede no conseguirse si existen factores ambientales que contribuyan a la aparición de los síntomas clínicos que no puedan ser controlados o eliminados, al igual que si los propietarios de los perros no están plenamente conformes con el plan de modificación de conducta o con la terapia de medicamentos propuesta. Por otro lado, en este estudio, encontramos que la efectividad del tratamiento no se ve afectada por la edad o sexo. Estos resultados están de acuerdo con estudios previamente publicados por Ibáñez y Ánzola (2009), quienes indicaron que la edad no tiene un efecto significativo sobre la respuesta al tratamiento combinado de fluoxetina y diazepam. Sin embargo, la eficacia del tratamiento podría haber sido influenciada por otros factores, como el medio ambiente, el espacio disponible y el grupo social. Se necesitan más estudios para valorar las posibles recaídas, los factores desencadenantes y el efecto que tiene el plan de modificación de conducta. Lo ideal sería realizar un estudio doble ciego comparando la combinación de fluoxetina-clorazepato, la modificación del comportamiento, y finalmente ambas terapias por separado, para valorar cualquier posible efecto placebo. Tales valoraciones no fueron posibles en este estudio, debido al limitado número de casos disponibles.

5.2. Trabajo de investigación 2

5.2.1. Resultados

La tabla 9 muestra los signos clínicos de los 35 perros con diversos trastornos del comportamiento relacionados con estados de ansiedad. Una gran variedad de desórdenes de ansiedad con agresividad estuvieron representados en quince perros, mientras que veinte perros mostraron algún tipo de trastorno ansioso sin ir acompañado de signos de agresividad.

Este estudio muestra diferencias significativas ($P < 0.02$), durante el período D3 de tratamiento (día 70) para ambas categorías diagnósticas (Tabla 15). Aunque los períodos D1

(día 14) y D2 (día 42) no presentaron diferencias significativas, se puede notar que el período D2 tiene un valor de *P* ligeramente menor, aunque esto no es suficiente para poder establecer en cuál de los dos períodos, el tratamiento se comportó mejor. Por otro lado, no existieron diferencias significativas entre machos y hembras o entre los grupos de edad que estuvieron representados (Tabla 15).

Tabla 15. Comparación de los efectos del tratamiento sobre los signos de ansiedad, edad, sexo y estado reproductivo de los grupos estudiados, en cada período. Diferencia entre los períodos y cumplimiento del cliente.

	Agg (n=15)	NAgg (n=20)	<i>P</i>	J (n=19)	A (n=16)	<i>P</i>	M (n=19)	H (n=16)	<i>P</i>
Período 1	2.5	2.0	0.19	2.2	2.2	0.84	2.1	2.3	0.45
Período 2	2.3	2.1	0.83	2.2	2.1	0.87	2.0	2.4	0.29
Período 3	2.3	2.5	0.72	2.6	2.2	0.41	2.3	2.6	0.40
D1	-0.2	0.1	0.22	0.0	-0.1	0.60	-0.1	0.1	0.71
D2	0.1	0.4	0.16	0.4	0.1	0.12	0.3	0.2	0.89
D3	-0.2	0.5	0.02	0.4	0.0	0.22	0.2	0.3	0.72
Cump	3.1	3.0	0.90	3.2	2.9	0.47	3.3	3.1	0.67

Agg = Perro ansioso con agresividad; NAgg = Perro ansioso sin agresividad; J= Jóvenes; A= Adultos; M= Machos; H= Hembras; Cump = cumplimiento del propietario con el plan de modificación de conducta; D1 = Diferencias en las mejorías entre los períodos 2 y 1; D2 = Diferencias en las mejorías entre los períodos 3 y 2; D3 = Diferencias en las mejorías entre los períodos 3 y 1; *P* = *p* valor

Con respecto a las respuestas clínicas (Tabla 16), en 13 perros (37.14%) pertenecientes a las dos categorías diagnósticas, se obtuvo una mejoría grande o moderada, y en 14 perros (40%) se consiguió una ligera mejoría. Por lo tanto, al final de la terapia (D3), el 77.14% de los perros mostraron algún tipo de mejoría en los signos reportados durante la consulta de comportamiento. Sin embargo, 8 perros (22.86%) no mostraron ningún cambio, aunque cabe destacar que ningún animal empeoró.

Once de los 15 perros ansiosos con agresividad (73.33%) mostraron mejorías. Sin embargo, el grupo de perros ansiosos sin agresividad, tuvo mejorías del 80.00% (16 de 20 perros tratados) (Tabla 16). Estos resultados sugieren que la combinación del tratamiento farmacológico y el plan de modificación de conducta se comportan mejor en este grupo de perros, lo que corrobora el efecto ansiolítico de las benzodiazepinas, en este caso el alprazolam.

Tabla 16. Respuestas clínicas según categoría de comportamiento, en perros tratados con fluoxetina, alprazolam y un plan de modificación de conducta.

	GM	MM	LM	SC	E
Agresivo	4	1	6	4	0
NAgresivo	5	3	8	4	0
Total	9	4	14	8	0
%	25.71	11.43	40.00	22.86	0

GM Gran mejoría; MM, Moderada mejoría; LM, Ligera mejoría; SC, Sin cambios; E, Empeoramiento; Agresivo, Perro ansioso con agresividad; NAgresivo, Perro ansioso sin agresividad.

Los coeficientes de correlación Spearman revelaron una correlación positiva y significativa entre el cumplimiento y la conformidad de los dueños con el tratamiento y los valores obtenidos para la mejoría encontradas en cada período de seguimiento (período 1, $r=0.55$, $P=0.0007$; período 2, $r=0.70$, $P<0.0001$; y período 3, $r=0.81$, $P<0.0001$; Tabla 17).

Tabla 17. Coeficientes de correlación de Spearman, entre las mejorías encontradas y el cumplimiento y la conformidad del propietario.

	ME (n=35)	Cump (n=35)	r	P
Período 1	2.20	3.03	0.55	0.0007
Período 2	2.17	3.03	0.70	< 0.0001
Período 3	2.40	3.03	0.81	< 0.0001

ME= Mejorías encontradas; Cump= Cumplimiento de los propietarios; P= p valor

5.2.2. Discusión

El objetivo de este estudio fue evaluar la combinación de alprazolam y fluoxetina, unidos a un programa de modificación de conducta, como tratamiento de los trastornos de ansiedad relacionados o no con agresividad en perros. Los resultados muestran algún grado de mejoría en 27 de los 35 perros tratados (77.14%) (Tabla 16). El éxito fue valorado por los veterinarios según la reducción o eliminación de las conductas relatadas durante la primera consulta de comportamiento realizada por etólogos especialistas.

Se utilizó el ISRS fluoxetina como parte de la terapia debido a que diferentes autores están de acuerdo con que este medicamento es útil para reducir los estados de ansiedad y mejorar los trastornos del comportamiento (Landsberg, *et al.*, 2008). Igualmente se decidió utilizar alprazolam adjunto a la fluoxetina, ya que las benzodiazepinas actúan como ansiolíticos (Overall, 2011) y además permiten un mayor cumplimiento del plan de modificación de conducta por parte del propietario, al notar la mejoría inicial con la terapia (Overall, 2011). Otro de los motivos para la administración de alprazolam fue la inmediatez

de su respuesta, lo cual permitió suplementar el efecto ansiolítico durante las 4 primeras semanas de tratamiento, en las cuales fluoxetina posiblemente no había alcanzado sus valores terapéuticos.

Los datos obtenidos no mostraron diferencias significativas en cuanto a la edad o sexo de los animales estudiados (Tabla 15), coincidiendo esto con estudios previos realizados con otras benzodiazepinas (Ibáñez y Ánzola, 2009), y aunque los datos obtenidos no mostraron una mejoría significativa en los signos para los trastornos de ansiedad durante el período 1 (día 14), los propietarios informaron una reducción en la intensidad y frecuencia de dichos comportamientos, lo cual podría explicar la discreta correlación obtenida para este período ($r=0.55$). Estos resultados, difieren de los resultados obtenidos en otros estudios donde el tratamiento con medicamentos mostró mejorías significativas en los niveles de ansiedad de los animales tratados al inicio de la terapia (Crowell-Davis *et al.*, 2003). Esta discrepancia puede ser debida a la diferencia de dosis utilizada y a la frecuencia de administración.

Por otra parte, cabe señalar que el medicamento en este estudio no produjo desinhibición de la conducta agresiva, ni empeoramiento en los signos de ansiedad o agresividad en los perros. Lo que no se relaciona con lo citado por Landsberg *et al.*, (2003); Crowell-Davis y Murray (2006) y Haugh, (2008), utilizando otras benzodiazepinas. Sin embargo, este hallazgo está de acuerdo con otros estudios, donde al utilizar una terapia combinada de otra benzodiazepina (diazepam) unida a un ISRS (fluoxetina) no se produce ningún tipo de empeoramiento en los signos de ansiedad ni tampoco existe desinhibición de la conducta agresiva (Ibáñez y Ánzola 2009).

Los resultados de este estudio indican que el tratamiento puede tener diferentes efectos dependiendo de si en el perro existe un trastorno ansioso acompañado o no de signos de agresividad. Las diferencias encontradas entre los perros ansiosos con o sin agresividad al día 70, además de mostrar que la terapia es más efectiva al final del tratamiento (D3) (Tabla 15), sugiere que esta terapia se comporta mejor en los perros que presentan trastornos de ansiedad sin signos de agresividad (Tabla 16). Por otro lado, en el estudio hubo una correlación positiva en el cumplimiento y satisfacción del propietario con la terapia propuesta y las mejorías encontradas para cada período de tratamiento. Durante las 2 primeras semanas (D1) (Tabla 15), en las cuales se administró alprazolam, aunque el comportamiento de los perros no mostró cambios significativos (0.22) (Tabla 15) los dueños mostraron satisfacción con los resultados ($r=0.55$), ($P= 0.0007$), (Tabla 17). Sin embargo,

esto puede atribuirse al efecto placebo que acompaña indirectamente el estudio, aunque este hallazgo permite corroborar que con la dedicación y cumplimiento del propietario tanto con el plan de modificación de conducta como con el tratamiento farmacológico, existe algún tipo de mejoría en los signos que hace que los propietarios se encuentren satisfechos con la terapia propuesta.

Por otra parte cabe señalar que la mejoría de los signos clínicos pudo estar influenciada por factores ajenos al tratamiento relacionados con el ambiente que rodea al animal. Por ello, es importante realizar estudios experimentales que controlen los diferentes factores externos que pueden alterar el tratamiento de las conductas ansiosas. En nuestro caso no fue posible esto, debido a que los animales provienen y conviven con diferentes familias y en ambientes muy diversos, lo cual pudo interferir con los resultados del tratamiento. Por esta razón, una de las recomendaciones planteadas es que los planes de modificación de conducta deben implementarse en los animales con problemas ansiosos y además deben perdurar a lo largo del tiempo con el fin de que no existan recaídas.

Finalmente este estudio ayuda a comprender la necesidad de realizar futuros estudios que permitan conocer, las tasas de recaída en los animales tratados, los factores externos que pueden interferir con la terapia propuesta, el efecto placebo, el efecto a largo plazo del plan de modificación de conducta y la eficacia de la utilización de agentes farmacológicos por separado.

5.3. Trabajo de investigación 3

5.3.1. Resultados

De los perros estudiados (135) el 39.26% (n= 53) presentaron signos de ansiedad acompañados de agresividad, mientras que el 60.74% (n= 82) presentaron signos de ansiedad sin agresividad (Tabla 10). El 40% fueron hembras y el 60% machos. El 38.52% de los animales eran menores de 3 años y el 61.48% presentaron edades mayores a 3 años. El 40% de los animales eran castrados y el 60. % enteros.

No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en cuanto al sexo, edad y estado reproductivo respecto a los tratamientos utilizados (Tabla 18), no obstante existe una tendencia de que los tratamientos T1 y T2 producen mejoría en los signos de ansiedad en animales adultos ($P = 0.12$), machos ($P = 0.15$) y enteros ($P = 0.14$), (Tabla 18).

Tabla 18. Diferencias entre las mejorías obtenidas, según los tratamientos utilizados, teniendo en cuenta edad, sexo y estado reproductivo.

	J (n =52)	A (n =83)	M (n =81)	H (n =54)	Ent (n =81)	Cast (n =54)
T1	2.6	2.3	2.4	2.8	2.6	2.4
T2	2.7	2.4	2.7	2.5	2.6	2.7
TC	3.0	3.0	3.0	3.0	3.1	2.9
P	0.56	0.12	0.15	0.56	0.14	0.57

J= Perros jóvenes; A= Perros adultos; M= Macho; H= Hembra; Ent= Perros enteros; Cast= Perros castrados; P=p valor; T1= Tratamiento con litio; T2= Tratamiento con Alprazolam-fluoxetina; TC= control.

Como se muestra en la Tabla 19, no encontramos diferencias significativas ($P > 0.05$) en las mejorías de los signos en ninguna de las dos categorías diagnósticas en función del tratamiento utilizado con respecto a los diferentes períodos de tratamiento (período 1, 2 y 3). Sin embargo, diferencias significativas ($P = 0.04$) se observaron en las diferencias en el período D2 y en los animales ansiosos con signos de agresividad en el período D3 ($P = 0.03$).

Tabla 19. Diferencia entre los tratamientos aplicados (T1, T2, TC) por categoría diagnóstica y las mejorías encontradas en los tres períodos estudiados.

	Agg				Nagg			
	T1	T2	TC	P	T1	T2	TC	P
Período 1	3.2	3.2	3.4	0.64	3.5	3.3	3.2	0.37
Período 2	3.3	3.4	3.2	0.87	3.3	3.4	3.2	0.81
Período 3	3.6	3.1	3.1	0.22	3.4	3.5	3.0	0.26
D1	0.1	0.2	-0.3	0.34	-0.2	0.2	-0.2	0.81
D2	0.3 ^a	-0.3 ^b	-0.1 ^b	0.04	0.1	0.1	-0.2	0.22
D3	0.4 ^a	-0.1 ^b	-0.3 ^b	0.03	-0.1	0.2	-0.2	0.27

Agg= Perros ansiosos con agresividad; Nagg=Perros ansiosos sin agresividad; T1=Tratamiento con litio; T2=Tratamiento con Alprazolam-fluoxetina; TC= control; P= p valor; Período 1= Primer período de tratamiento, día 14; Período 2=Segundo período de tratamiento, día 42; Período 3= Tercer período de tratamiento, día 70; D= Diferencia en las mejorías entre los períodos 2 y 1; D2 = Diferencia en las mejorías entre los períodos 3 y 2; D3, Diferencia en las mejorías entre los períodos 3 y 1.

En la Tabla 20 se muestran los resultados, en porcentaje, de los tratamientos empleados en los dos grupos de perros Agg y Nagg. Se puede observar que los tres tratamientos (T1, T2 y TC) en todos los casos mostraron algún tipo de mejoría (GM, MM, y LM) y en ningún caso se observaron empeoramientos (E). En el grupo de animales ansiosos con agresividad (Agg), el tratamiento T1 ha supuesto una mejoría en el 100% de los perros estudiados (Tabla 20), y un porcentaje elevado de los animales (23.82%) tuvieron una gran mejoría (GM).

Mientras que en los otros dos tratamientos (T2 y TC) no se encontraron casos con grandes mejorías.

Estos datos sugieren que el T1 presenta un buen comportamiento en la categoría de perros ansiosos con agresividad (Agg), mientras que el tratamiento T2 se comporta mejor en la categoría de perros ansiosos sin agresividad (Nagg) ya que es el único tratamiento que presenta grandes mejorías (6.45%), además de que un 58,06% de los perros presentaron moderadas mejorías, y el índice de perros que no presentaron cambios es el más bajo (19.35%). En el grupo control (TC) no se encontraron grandes mejorías en ninguna de las dos categorías estudiadas (Agg y Nagg), y el porcentaje de animales que no presentó ningún cambio es bastante elevado (38.88 y 33.33%), (Tabla 20).

Tabla 20. Porcentaje de las mejorías encontradas en los grupos de tratamiento (T1, T2 y TC) en función de las categorías diagnósticas (Agg y Nagg).

	Grupos de tratamiento														
	T1=(n=45)					T2=(n=45)					TC=(n=45)				
	GM	MM	LM	SC	E	GM	MM	LM	SC	E	GM	MM	LM	SC	E
Agg	23.82	47.61	28.57	0	0	0	28.57	64.28	7.40	0	0	22.22	38.88	38.88	0
Nagg	0	8.33	33.33	58.33	0	6.45	58.06	16.12	19.35	0	0	40.70	25.92	33.33	0

Agg= Perros ansiosos con agresividad; Nagg= Perros ansiosos sin agresividad; T1= Tratamiento con litio; T2= Tratamiento con Alprazolam-fluoxetina; TC= control; GM= Gran mejoría; MM=Moderada mejoría; LM= Ligera mejoría; SC= Sin cambios; E= Empeoramiento.

El coeficiente de correlación de Spearman reveló, que al final del estudio (día 70), existió una correlación significativa entre el cumplimiento del propietario y las mejorías obtenidas en el grupo de animales tratados con T1 ($r= 0.43$) ($P= 0.001$). Sin embargo, para el grupo de animales tratados con TC y T2 no existió correlación significativa ($r = 0.16$) ($P = 0.30$); ($r = 0.16$) ($P = 0.28$) respectivamente.

5.3.2. Discusión

El objetivo de este estudio fue comprobar si los tratamientos utilizados (T1, T2 y TC) pueden ser considerados como agentes terapéuticos en los desórdenes de ansiedad en perros. Los resultados muestran que el gluconato de litio tiene un mejor comportamiento en los desórdenes de ansiedad que cursan con agresividad (100% de mejorías, tabla 20), y que el tratamiento con la combinación de ansiolíticos se comporta mejor frente a los desórdenes de ansiedad sin agresividad (80.63%) (Tabla 20). Los resultados aportan por primera vez la eficacia del gluconato de litio en la terapia de desórdenes de ansiedad en perros por lo que

puede utilizarse como agente terapéutico en los trastornos de ansiedad que cursan con agresividad, en particular en los casos cuyos propietarios rechazan tratamientos con psicótrpos.

La presentación de signos de agresividad relatados por el propietario y vistos en consulta por los especialistas en comportamiento animal (piloerección, mirada fija-desafiante y muestra de dientes acompañada de gruñido) permitió dividir los animales ansiosos (135 perros) en 2 categorías: perros ansiosos con agresividad y perros ansiosos sin agresividad. Dicha división se realizó centrándonos en estudios que evidencian que la ansiedad contribuye al desarrollo y expresión del comportamiento agresivo (Beerda *et al.*, 1999) pues investigaciones recientes han revelado una posible relación entre la agresividad y la ansiedad (Kudryavtseva *et al.*, 1997; Clement y Chapouthier, 1998; Haller y Halasz, 2000). La selección de estos signos que ayudaron a catalogar a los animales como agresivos, se realizó teniendo en cuenta los estudios de Beaver (1983; 1999), Fox (1975) y O'farrel (1992), los cuales especifican que aunque la piloerección puede confundirse fácilmente con el juego, en trastornos de ansiedad es un indicativo fiable de reactividad. Por otro lado, el mostrar dientes y acompañarlo de gruñidos por parte del perro, es señalado por Beaver (1999) como una señal clara de agresividad.

En la mayoría de los casos los dueños relataron como signo de agresividad el ladrido de su perro. Sin embargo, dicho signo no fue tenido en cuenta para la selección de los animales agresivos de este estudio, ya que en trabajos realizados por Correia *et al* (2007), Beaver (1999) y Manteca (2003) los ladridos no son considerados como un indicador fiable, debido a que distraen la atención de los propietarios sobre las señales visuales, pues las señales acústicas son recordadas más fácilmente que las visuales, convirtiendo este signo en una señal ambigua que puede indicar juego, saludo o llamada de atención.

La postura de las orejas no fue un signo a considerar en el diagnóstico de agresividad, ya que es considerado poco consistente, pues el propietario no aportó información valiosa al respecto, bien porque no lo veía o bien por qué no podía recordarlo. Notari y Goodwin (2007) citan que otro inconveniente a tener en cuenta, es que en las razas que tienen orejas caídas la interpretación es dificultosa y puede conllevar a errores adicionales.

Debido a lo mencionado anteriormente, en este estudio los animales reclutados además de mostrar signos de ansiedad como aullidos, lamido de labios, lengua jadeante, cabeza

retraída y eliminación inapropiada, también debían mostrar tensión muscular, excesiva vocalización, nerviosismo, miedos, respuestas de escape o tendencia a esconderse frente a ciertos estímulos, y un permanente estado de alerta.

Tal como se cita en los resultados, un 39.26% de los perros presentaron ansiedad acompañada de agresividad, mientras que un 60.74% de los perros no mostraron conducta agresiva (Tabla 10). Estos resultados pueden ser debidos a que la ansiedad es uno de los motivos más comunes en la consulta de medicina del comportamiento en el Centro de Comportamiento Animal de la UCM. Llama la atención que aunque la agresividad es uno de los mayores motivos de eutanasia en los perros (Reisner, 1994) los propietarios que mostraron mayor preocupación en la consulta fueron los dueños de perros ansiosos, esto podría explicarse ya que la ansiedad conlleva a una importante alteración emocional acompañada de signos que alteran el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) activando específicamente el sistema nervioso simpático (SNS) y ocasionando alteración en la salud y el bienestar del individuo (Stroud *et al.*, 2002; Dreschel, 2010) lo que finalmente incrementa el estado de preocupación del propietario. Es por ello que los estados ansiosos son considerados como estados patológicos mayores; los cuales invalidan al individuo y modifican profundamente las relaciones que el perro establece con su entorno, sus congéneres y el hombre (Overall, 1997).

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos utilizados en cuanto al sexo, la edad y el estado reproductivo (Tabla 18). Igualmente no existieron diferencias significativas en las mejorías de los signos clínicos al utilizar los tres tipos de tratamiento, pues todos los tratamientos mejoraron los signos clínicos de los animales ansiosos, ya que en todos los tratamientos existieron mejorías ligeras (LM) y moderadas (MM) las cuales fueron relatadas por los propietarios en los seguimientos posteriores (Tabla 20). Sin embargo, las grandes mejorías (GM) estuvieron presentes en los perros ansiosos con agresividad tratados con T1, y en los perros ansiosos sin agresividad tratados con T2. Por otro lado, no se presentaron grandes mejorías (GM) en ninguna de las dos categorías diagnósticas para los animales tratados con TC. Esto puede corroborar estudios realizados por otros autores los cuales soportan que la utilización de psicofármacos (Seksell y Lindeman 2001; Schwartz, 2003; Sherman y Mills, 2008) y el uso de oligoelementos (Reisner, 1994; Moore, 1995; Viala, 2013) mejoran considerablemente los signos de ansiedad. Por ejemplo estudios de Schnauzer (2002) muestran que ratas tratadas con gluconato de litio disminuyen los signos

de ansiedad, al igual que estudios en otras especies animales como los de Anke *et al* (2005) en cabras, Ledoux (2003) en vacas y Dantzer y Momade (1979) en cerdos.

Un hallazgo interesante es que en el grupo de perros con ansiedad acompañada de signos de agresividad tratados con T1 todos los animales mejoraron. Incluso se encontró que un 23.82% de los animales tuvieron una gran mejoría (GM) mientras que en los animales tratados con la unión de psicofármacos y el tratamiento conductual de control, las grandes mejorías (GM) no se reportaron, estando de acuerdo con estudios realizados utilizando litio en ratones con agresividad por dominancia (Prasad y Sheard, 1982). Por otro lado, los perros de nuestro estudio no alteraron sus niveles de actividad y tampoco cambiaron su interacción social. Esto corrobora que tanto el oligoelemento litio, como la benzodiacepina alprazolam, no producen sedación en los perros del estudio, lo cual resulta importante en el momento de evaluar el éxito de la terapia por parte del propietario.

Los resultados sugieren que el tratamiento con gluconato de litio ofreció mejores resultados en los animales tratados pertenecientes al grupo de perros ansiosos con signos de agresividad mientras que el tratamiento con la combinación de psicofármacos (alprazolam y fluoxetina) se comportó mejor en los perros ansiosos sin agresividad, pues las mejorías encontradas en los animales agresivos solo estuvieron representadas en un 6,45% (Tabla 20). Lo que podría ser útil en la clínica del comportamiento, ya que según el hallazgo o no de signos de agresión en los perros ansiosos sería conveniente utilizar un oligoelemento o una combinación de psicofármacos unidos a un plan de modificación de conducta.

La terapia de modificación de conducta se comportó bien en el tratamiento de los signos de los animales en las dos categorías diagnósticas (Tabla 20). Coincidiendo así con estudios realizados por (Reisner, 2006) donde se cita la efectividad de la terapia de modificación del comportamiento para tratar estados ansiosos en los animales. En este estudio los animales del grupo control (TC) presentaron mejorías ligeras y moderadas. Sin embargo, ningún animal de las dos categorías diagnósticas mostró grandes mejorías (GM).

En ambas categorías diagnósticas el 72.21% de los perros no tuvo ninguna clase de mejoría (SC), porcentaje mayor comparado con el obtenido para el grupo tratado con gluconato de litio (58.33%) y el grupo tratado con alprazolam-fluoxetina (26.75). En el presente estudio, no hemos observado efectos desinhibitorios, ni signos de dependencia, ni recaídas. Así, ningún animal presentó signos de desinhibición de la conducta agresiva, a

pesar de que algunos autores (Bruhwyler, 1990; Herron, 2009) indican el posible efecto desinhibitorio que pueden tener las benzodiazepinas en el caso de animales agresivos. Por otro lado, tampoco se encontraron signos de dependencia durante el estudio, lo que no corrobora lo citado por Otto *et al* (2010), el cual habla de que son frecuentes los signos de dependencia cuando se utiliza este tipo de tratamiento. Ambas cuestiones pudieron ser debidas al poco tiempo que se administró alprazolam (4 semanas), pues usos prolongados pueden ocasionar signos de dependencia en los animales (Curran *et al.*, 2003; Hart *et al.*, 2009). Por otro lado, ninguno de los perros tratados tuvo recaídas, algo importante para lograr que el propietario siga confiando en la terapia propuesta (Casey *et al.*, 2008).

5.4. BIBLIOGRAFÍA. TRABAJOS EXPERIMENTALES

Anke, M., Arnold, W., Mullern, R., Schafer, U., 2005. Lithium and Rubidium in the food chain, intake by man, essentiality ad toxicity. Satellite symposium on lithium Athens 13-41.

Beaver, B.V., 1983. Clinical classification of canine aggression. *Applied Animal Ethology* 10, 35–43.

Beaver, B.V., 1999. Canine social behavior. *Canine behavior: a guide for veterinarians*, WB Saunders, Philadelphia.pp. 137–181.

Beerda, B., Schilder, M., van Hooff, J.A., 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. I. Behavioral Responses. *Physiology & Behavior* 66, 233-242.

Bruhwyler, J., Chleide, E., 1990. Comparative-study of the behavioral, neurophysiological, and motor effects of psychotropic-drugs in the dog. *Biological Psychiatry* 27(11), 1264-1278.

Casey, R.A., 2008. Owner compliance and clinical outcome measures fordomestic cats undergoing clinical behavior therapy. *Journal of Veterinary Behavior* 3, 114-124.

Correia, C., Ruiz de la Torre, J.L., Manteca, X., Fatjo, J., 2007. Accuracy of dog owners in the description and interpretation of canine body language during aggressive episodes. *Proceedings of the 6th International Veterinary Behaviour Meeting & 4th Annual Meeting of the European College of Veterinary Behavioural Medicine-Companion Animals 13th Annual Meeting of the European Society of Veterinary Clinical Ethology.*

Clement, Y., Chapouthier, G., 1998. Biological basis of anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 22(5), 623 – 33.

Crowell-Davis, S., Seibert L., Sung W., Parthasarathy V., Curtis T., 2003. Use of clomipramine, alprazolam and behavior modification for treatment of storm phobia in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 6,744-748.

Crowell-Davis, S.H., Murray, T., 2006. *Veterinary Psychopharmacology*. Blackwell Publishing, Oxford, UK.pp.51.

Crowell-Davis, S.H., 2008. Benzodiazepines: pros and cons for fear and anxiety. *Compendium-continuing education for veterinarians* 30, 526–530.

Dantzer, R., Momade, P., 1979. Effects of lithium on aggressive behaviour in domestic pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2, 299-303.

Dodman, N., Donnelly, R., Shuster, L., Mertens, P., Rand, W., Miczek, K., 1996. Use of fluoxetine to treat dominance aggression in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 209, 1585–1587.

Dodman, N., Shuster, L., 2000. *Psychopharmacology of Animal Behavior Disorders*. Blackwell Science, Malden, MA, USA.pp.170.

Dreschel, N.A., 2010. The effect of fear and anxiety on health and lifespan in pets dogs. *Applied Animal Behaviour Science* 125, 157-162.

Fox, M. W., 1975. *The Wild Canids: Their Systematics, Behavioral Ecology and Evolution*. Van Nostrand-Reinhold, Nueva York.

Fuller, R.W., 1996. The influence of fluoxetine on aggressive behavior. *Neuropsychopharmacology* 14, 77–81.

Haller, J., Halasz, J., 2000. Anxiolytic effects of repeated victories in male Wistar rats. *Aggressive Behavior* 26 (3), 257 – 61.

Haug, L.I., 2008. Canine aggression toward unfamiliar people and dogs. *Veterinary Clinics Small Animal Practice* 38, 1023–1041.

Herron, M.E., Shofer, F.S., Reisner, I.R., 2009. Survey of the use and outcome of confrontational and non-confrontational training methods in client-owned dogs showing undesired behaviors. *Applied Animal Behaviour Science* 117 (1), 47-54.

Ibáñez, M., Anzola, B., 2009. Use of fluoxetine, diazepam, and behavior modification as therapy for treatment of anxiety-related disorders in dogs. *Journal of Veterinary Behavior Clinical Applications and Research* 4, 223–229.

Kudryavtseva, N.N., Bakshantovskaya, I.V., Avgustinovich, D.F., 1997. The influence of repeated experience of aggression in daily intermale confrontations on individual and social behaviors of male mice. *Zhurnal Vysshei Nervnoi Deyatelnosti Imeni I P Pavlova* 47(1), 86 – 97.

Landsberg, G., Hunthausen, W., Ackerman, L., 2003. *Handbook of Behavior Problems of the Dog and Cat*, Second Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, USA, p. 198.

Landsberg, G., Melese, P., Sherman, B., Neilson, J., Zimmerman, A., Clarke, T., 2008. Effectiveness of fluoxetine chewable tablets in the treatment of canine separation anxiety. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 3, 12-19.

Ledoux, J.M., 2003. Features of the comparative pharmacokinetics of lithium, a potential application of its use in livestock farming. *Medical Hypotheses* 61 (2), 278-281.

Manteca, J. Ansiedad por separación del perro y diagnósticos diferenciales. (2003). In: Manteca, J. *Etología clínica veterinaria del perro y del gato*. Ed. Multiméica. Barcelona.

Moore, J.A., 1995. An assessment of lithium using the IEHR evaluative process for assessing human developmental and reproductive toxicity of agents. *Reproductive Toxicology* 9 (2), 175–210.

Neilson, J.C., 2002. Fear of places or things. In: Horwitz, D., Mills, D.M., Heath, S. (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Behavioural Medicine*. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, UK, pp.173–180.

Notari, L., Goodwin, D., 2007. A survey of behavioural characteristics of pure-bred dogs in Italy. *Applied Animal Behaviour Science* 103,118–130.

O'Farrel, V., 1992. Manual of canine behaviour. British small animal veterinary association. Shurdington, Cheltenham, Gloucestershire, UK.pp.216.

Otto, W., Stefan, G., Hofman Editors., 2010. Avoiding treatment failures in the anxiety disorders Springer. London UK.

Overall, K.L., 1997. Clinical Behavioral Medicine for Small Animals .Mosby, St. Louis, MO.pp.209-212.

Overall, K.L., 2001. Pharmacological treatment in behavioral medicine: The importance of neurochemistry, molecular biology and mechanistic hypotheses. *The Veterinary Journal* 162, 9–23.

Overall, K.L., Dunham, A., Frank, D., 2001. Frequency of non-specific clinical signs in dogs with separation anxiety, thunderstorm phobia, and noise phobia, alone or in combination. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 219, 467–473.

Overall, K.L., 2011. That dog is smarter than you know: Advances in understanding canine learning, memory, and cognition. *Topics in Companion Animal Medicine* 26, 1–9.

Pineda, S., Anzola, B., Olivares, M., Ibañez, M., 2014. Fluoxetine combined with clorazepate dipotassium and behaviour modification for treatment of anxiety-related disorders in dogs. *The Veterinary Journal* 199, 387-391.

Prasad, V., Sheard, M.H., 1982. Effect of lithium upon desipramine enhanced shock-elicited fighting in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 17, 377–8.

Reisner, I., 1994. Use of lithium for treatment of canine dominance-related aggression. *Applied Animal Behaviour Science* 39, 183-92.

Reisner, I., 2006. An overview of aggression. In: Horwitz, D., Mills, D., Heath, S. (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Behavioural Medicine*. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, UK.pp.181–194.

Schrauzer, G. N., 2002. Lithium: Occurrence, dietary intakes, nutritional essentiality. *Journal of the American College of Nutrition* 21 (1), 14-21.

Schwartz, S., 2003. Separation anxiety syndrome in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 222, 1526–1532.

Seksel, K., Lindeman, M.J., 2001. Use of clomipramine in treatment of obsessive-compulsive disorders, separation anxiety and noise phobia in dogs: a preliminary, clinical study. *Australian Veterinary Journal* 79, 252-256.

Sherman, B., Mills, D., 2008. Canine Anxieties and Phobias: An Update on Separation Anxiety and Noise Aversions. In: Landsberg G., Horwits D. *Practical Application and New Perspectives in Veterinary Behavior*. Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice. Elsevier Saunders. Philadelphia 38 (5) 1081-1106.

Stroud, L.R., Salovey, P., Epel, E.S., 2002. Sex differences in stress responses: social rejection versus achievement stress. *Biological Psychiatry* 52, 318–327.

Viala, R., 2013. Interet du lithium á doses modérées. *La Phytothérapie Européenne* 11-16.

6. DISCUSIÓN GENERAL

La ansiedad es una respuesta normal que el organismo lleva a cabo frente a situaciones de amenaza o a procesos de estrés. Por lo general es transitoria y controlable, pues probablemente representa el sistema de ‘alarma’, que permite preparar al organismo para llevar a cabo una serie de respuestas físicas y emocionales frente al peligro. Sin embargo, los trastornos patológicos relacionados con ansiedad son diagnosticados cuando el individuo experimenta una serie de signos físicos y mentales durante largos períodos de tiempo, provocando dichos signos un malestar significativo y asociándose con un claro deterioro orgánico (Brandish y Baldwin, 2012).

Debido a la carencia de investigaciones actuales acerca del tratamiento de los trastornos de ansiedad en los perros, la presente tesis doctoral se planteó con el objetivo de conocer qué tipo de medicación se comporta mejor frente a los trastornos de ansiedad en perros y cuál de ellas permite desarrollar con éxito un plan de modificación de conducta. Por otro lado, debido a que los perros poseen sistemas sociales prácticamente idénticos a los sistemas de relación humana, y sabiendo que el perro es uno de los modelos animales más utilizados en el estudio de la ansiedad, su utilización no sólo proporciona oportunidad para comprender la ansiedad humana sino también para ayudar a mejorar la relación entre el propietario y su animal de compañía (Overall, 2000).

No hay que olvidar que la ansiedad generalmente acompaña a la mayoría de los trastornos de conducta del perro doméstico (Overall, 1997), lo que evidencia una clara relación entre el estado ansioso y la presentación de conductas agresivas en diferentes especies animales (Avgustinovich *et al.*, 1997; Clement y Chapouthier, 1998; Ferrari *et al.*, 1998; Parmigiani *et al.*, 1999), pues diversas investigaciones muestran cómo la mayoría de los animales agresivos presentan altos niveles de ansiedad (Ferrari *et al.*, 1998) y generalmente un animal ansioso es agresivo (Kudryavtseva *et al.*, 2002). Debido a estas afirmaciones, en los trabajos de investigación desarrollados para la presente tesis doctoral, se buscó conocer qué tipo de terapia farmacológica y de conducta ofrece mejores resultados en animales que no sólo presentan estado de ansiedad, sino también estados de ansiedad acompañados de signos de agresividad, ya que éstos, suponen un alto impacto en la relación humano-animal, la salud pública y el bienestar de los animales (Le Brech *et al.*, 2008, Amat *et al.*, 2009; Kruk *et al.*, 2004).

En general la mayoría de los trastornos de conducta requieren para su tratamiento planes de trabajo que involucren al dueño, una modificación medio-ambiental, además de una

correcta modificación de conducta del animal de compañía. Sin embargo, en los trastornos de ansiedad la mayoría de las veces no se logra controlar los estados ansiosos del perro, lo que lleva a que el proceso ansioso interfiera con el proceso de aprendizaje y memoria del individuo (Kim y Diamond, 2002). Por ello, autores como Simpson *et al* (2007) reportan la necesidad de una terapia combinada, de un plan de modificación de conducta unido a una terapia farmacológica. Es así como esta investigación se propuso establecer una terapia farmacológica combinada apropiada, que permita no sólo la respuesta positiva del animal, sino también lograr la motivación suficiente del cliente para llevar a cabo un plan de tratamiento de modificación de la conducta, el cual permita lograr una mejoría de los signos de ansiedad en los perros que poseen trastornos de ansiedad. Debido a que los problemas de comportamiento alteran significativamente la relación del perro con su propietario, afectando el vínculo humano animal (Sherman y Mills, 2008), se ha buscado en este trabajo que la terapia farmacológica unida al plan de modificación de conducta, motive al propietario para realizar las tareas propuestas y así lograr equilibrar el vínculo entre el propietario y su perro, mejorando el bienestar de ambos.

Sin embargo, durante el planteamiento de la hipótesis de este trabajo fue necesario tener en cuenta que la mayoría de los agentes psicótrópos comienzan su efecto tras 4 o 5 semanas de tratamiento y debido a la necesidad de que el propietario se sintiera motivado desde el inicio a realizar el plan de modificación de conducta, se decidió utilizar una terapia combinada con un ISRS (fluoxetina) y una benzodiacepina (clorazepato o alprazolam), pues la acción inmediata de estos últimos, permite controlar los signos de ansiedad mientras el antidepresivo, en este caso fluoxetina, alcanza los niveles necesarios para ejercer su efecto ansiolítico, tal como se reporta en estudios realizados por Crowell-Davis *et al* (2003).

Los resultados de estos estudios muestran cómo al utilizar la terapia combinada con alprazolam y al realizar estadísticamente la correlación de Spearman para conocer la relación entre la mejoría en los signos clínicos y el cumplimiento y conformidad del propietario con la terapia propuesta, los valores son significativos para los tres períodos de tratamiento (día 14, 42 y 70) (tabla 17), es decir, que no sólo el propietario estuvo satisfecho durante la primera parte del tratamiento con la terapia de alprazolam-fluoxetina, sino que igualmente se mostró conforme hasta el final de la terapia (Tabla 21). Sin embargo, otra posible interpretación a realizar, es que los propietarios que participaron en este estudio tuvieron algún tipo de influencia de efecto placebo, lo que hizo que posiblemente se mostraran más

conformes a lo largo del tratamiento. Estos resultados contrastan con los resultados obtenidos en el trabajo donde se utilizó clorazepato, pues éste mostró una correlación de Spearman moderada al inicio del tratamiento (día 14) (Tabla 14), lo que puede indicar que el propietario no percibió como altamente satisfactorios los efectos del tratamiento farmacológico durante el período 1 al utilizar clorazepato. Sin embargo, a medida que aumentó el tiempo de tratamiento (día 42 y 70) los propietarios se mostraron altamente conformes, mostrando valores de P significativos ($P = 0.0001$), lo que puede corroborar que a medida que avanza el tratamiento, la terapia va mejorando los signos clínicos y el cliente incrementa su conformidad (Tabla 21).

Cabe destacar que en general la terapia combinada de agentes farmacológicos junto al plan de modificación de conducta se comportó de forma satisfactoria, sin embargo, al analizar los resultados del trabajo de investigación 2, donde se utilizó alprazolam en la terapia combinada, el 77.14% de los perros de ambas categorías diagnósticas mostraron algún tipo de mejoría, lo que contrasta con los datos obtenidos en el trabajo de investigación 1 (utilizando clorazepato), pues el total de animales que presentó mejorías estuvo representado en un 68.95% (Tabla 22), lo que puede sugerir que los signos de ansiedad en los perros mejoran en mayor o en menor medida utilizando alprazolam dentro de la terapia combinada. Por otro lado, es importante tener en cuenta que el clorazepato es más sedativo que alprazolam lo que pudo haber interferido en la realización del plan de modificación de conducta por parte del animal, lo que finalmente podría haber alterado la respuesta al tratamiento y por ello el porcentaje de mejorías encontradas en los animales al utilizar alprazolam fue mayor. Sin embargo, es difícil afirmar que todos los animales estaban bajo los efectos sedativos, debido a que los propietarios no suministraron información al respecto, posiblemente debido a que se les dificultó diferenciar estados de tranquilidad y de sedación.

Al analizar el porcentaje de animales que no presentó ninguna mejoría en sus signos (SC), ambos medicamentos presentaron valores similares (clorazepato = 22.22%; alprazolam = 22,86 %) (Tabla 22) lo que está de acuerdo con observaciones realizadas por diferentes autores, donde la mejoría en los signos de los problemas de conducta se logra utilizando no sólo una terapia combinada sino que es necesaria la participación y colaboración del propietario (Askew, 2005; Landsberg, *et al.*, 2008; Overall, 2011). Estos datos pudieron ser debidos a que a pesar de que la terapia farmacológica se estaba suministrado correctamente,

el plan de modificación de conducta no se llevó a cabo en su totalidad por el propietario, lo que impidió que existiese una mejoría total en los signos.

Uno de los posibles problemas que se pueden encontrar al administrar benzodicepinas, es que exista un empeoramiento y/o desinhibición en la conducta agresiva (Müller, 1995; Crowell-Davis y Murray, 2006). En ninguno de los trabajos de investigación existió desinhibición en la conducta agresiva, sin embargo, para el caso del clorazepato los propietarios no suministraron datos suficientes que permitiesen corroborarlo.

Al analizar qué porcentaje de animales empeoró (E), un 8.33% de los perros tratados con clorazepato mostró un empeoramiento en los signos reportados, lo que contrasta con los resultados obtenidos al utilizar alprazolam, pues durante las 4 semanas de tratamiento con dicho medicamento no hubo reporte por parte de los propietarios de un empeoramiento en los signos ansiosos (Tabla 22). Es decir que el 8.33% de los perros de la categoría ansiosa con agresividad que empeoró al utilizar clorazepato y el 22.22% de los perros de ambas categorías diagnósticas que no mostró ninguna mejoría en sus signos, pudieron deberse a factores externos difíciles de controlar, tal como es el caso de estímulos externos medio ambientales, relación alterada entre propietario y animal y/o errónea aplicación del plan de modificación de conducta.

Un aspecto importante a considerar, es que en ninguno de los animales del estudio para las dos categorías diagnósticas utilizando alprazolam o clorazepato, existió síndrome de retirada después de las cuatro semanas de administración. Esto contrasta con estudios donde la administración prolongada de benzodicepinas, produce generalmente en los individuos signos clínicos de dependencia (Woods *et al.*, 1987; Woods *et al.*, 1992). En nuestros estudios no se observaron dichos signos, posiblemente debido a que el tratamiento farmacológico con benzodicepinas sólo se administró durante cuatro semanas de tratamiento no dando lugar a que el organismo manifestara signos de dependencia.

Finalmente, tal como citan diferentes autores los medicamentos psicotrópicos poseen ciertas desventajas y efectos secundarios (Woods *et al.*, 1992; Simpson y Anderson 1996; Manthey, 2012) que hacen que los propietarios rehúsen de su utilización. Para lo cual se planteó la comparación de la terapia farmacológica convencional y una terapia basada en la utilización de oligoelementos, concretamente gluconato de litio, ya que diversos estudios demuestran su eficacia para tratar los trastornos relacionados con ansiedad tanto en animales

como en humanos (Dantzer y Momade, 1979; Reisner, 1994; Moore, 1995; Ledoux, 2003; Anke *et al.*, 2005; Viala, 2013).

Nuestros resultados muestran como el gluconato de litio, a dosis de oligoterapia, durante las 10 semanas de tratamiento acompañado del plan de modificación de conducta propuesto permite que los animales ansiosos-agresivos muestren mejorías en todos los casos (ver tabla 20). Por otro lado, el tratamiento con litio muestra un porcentaje considerable de grandes mejorías (GM) en la categoría de los perros ansiosos con agresividad (23.82%), lo que no ocurrió con los otros tratamientos. Sin embargo, hay que tener en cuenta que debido a que la mayoría de los propietarios tienen preferencia actualmente por compuestos que no sean de origen medicamentoso, pudieron haber suministrado información sesgada al respecto.

Es importante que en futuras investigaciones se estudien posibles diferencias entre los tratamientos, y la motivación del propietario. Por ejemplo, en esta investigación los propietarios estuvieron más conformes con la administración del tratamiento con oligoelemento litio a lo largo de todo el tratamiento (correlación de Spearman altamente significativa entre las mejorías de los signos clínicos y la satisfacción y cumplimiento de la terapia por parte del propietario ($r=0.43$; $P= 0.001$), lo que contrasta con los resultados obtenidos en este mismo trabajo al utilizar alprazolam, en el cual durante el período 1 la correlación entre la mejoría de los signos y la satisfacción y cumplimiento del propietario no fue significativa ($r=0.16$; $P=0,28$). Este hallazgo puede tener un impacto sobre la realización de la terapia combinada, pues el propietario al estar más conforme, posiblemente realice con eficacia la terapia planteada, lo que finalmente se verá reflejado al final de todo el tratamiento. Por otro lado, en los animales pertenecientes a la categoría de perros ansiosos sin agresividad, al utilizar el oligoelemento litio no se reportaron grandes mejorías (GM) por parte del propietario, incluso se puede observar en la tabla 20 que para esta categoría de perros, el tratamiento donde se utilizó alprazolam mostró grandes mejorías en un 6.45 % de los perros tratados; y al comparar las mejorías totales reportadas por los propietarios de perros ansiosos sin agresividad, el porcentaje más bajo se encontró en el oligoelemento litio (41,66%). Este hallazgo podría llevar a afirmar que la terapia combinada con una benzodiacepina del tipo alprazolam es más efectiva para los perros ansiosos que no presentan estados de agresividad, lo que contrasta con la utilización del oligoelemento litio, el cual se muestra altamente eficaz para mejorar todos los signos de los perros ansiosos que tienen agresividad (100 % de mejorías, ver tabla 20).

Por otro lado, los propietarios no reportaron ningún signo de sedación, desinhibición de la conducta agresiva o tolerancia, al utilizar gluconato de litio, lo que corrobora la baja posibilidad de la presentación de efectos secundarios al utilizar dicho oligoelemento (Berthélémy, 2008), además de comprobar su no interferencia con los niveles de actividad e interacción social de los perros, tal como ocurre con estudios realizados en ratones por Prasad y Sheard (1982). Futuras investigaciones utilizando la oligoterapia con gluconato de litio podrían ayudar a confirmar lo planteado por Leyris y Dupuis (1988) y Lecrubier y Fessard (2005) quienes han estudiado como este oligoelemento puede ser eficaz en los períodos de retirada cuando se ha administrado benzodiazepinas como tratamiento para los trastornos de ansiedad.

Finalmente estos trabajos corroboran la necesidad de implementar un plan de modificación de conducta que acompañe el tratamiento de los estados ansiosos, pues por sí solo el plan de modificación conductual no demostró grandes mejorías (GM) en los signos clínicos para los perros de las dos categorías diagnósticas (Tabla 20), sin embargo fue efectivo para lograr moderadas y ligeras mejorías. Esto confirma los planteamientos citados por diferentes autores donde el plan conductual puede mostrarse efectivo para los trastornos de conducta en los animales de compañía (Overall, 1996; Landsberg, 2001; Horwitz, 2006).

A la vista de los resultados podemos sugerir que un plan combinado de agentes farmacológicos y terapia de modificación conductual se muestra efectivo para tratar los trastornos de ansiedad en perros, ya que permite que el propietario se encuentre satisfecho con los resultados y esté más motivado para realizar la terapia conductual, lo que finalmente terminará mejorando los signos ansiosos. Sin embargo, es importante conocer las diferentes limitaciones que poseen los agentes farmacológicos y el plan de modificación de conducta por si solos, y por ello, el gluconato de litio, a dosis de oligoterapia se plantea como una alternativa novedosa para los casos donde los propietarios rechazan el uso de agentes psicotrópicos además de mejorar considerablemente los signos de ansiedad que cursan con agresividad en los perros.

Tabla 21. Diferencia entre los tratamientos aplicados (T1, T2, TC) por categoría diagnóstica y las mejorías encontradas en los tres períodos estudiados.

	Agg				Nagg			
	T1	T2	TC	<i>P</i>	T1	T2	TC	<i>P</i>
Período 1	3.2	3.2	3.4	0.64	3.5	3.3	3.2	0.37
Período 2	3.3	3.4	3.2	0.87	3.3	3.4	3.2	0.81
Período 3	3.6	3.1	3.1	0.22	3.4	3.5	3.0	0.26
D1	0.1	0.2	-0.3	0.34	-0.2	0.2	-0.2	0.81
D2	0.3 ^a	-0.3 ^b	-0.1 ^b	0.04	0.1	0.1	-0.2	0.22
D3	0.4 ^a	-0.1 ^b	-0.3 ^b	0.03	-0.1	0.2	-0.2	0.27

Agg= Perros ansiosos con agresividad; Nagg=Perros ansiosos sin agresividad; T1=Tratamiento con litio; T2=Tratamiento con Alprazolam-fluoxetina; TC= control; *P*= p valor; Período 1= Primer período de tratamiento, día 14 ; Período 2=Segundo período de tratamiento, día 42; Período 3= Tercer período de tratamiento, día 70; D= Diferencia en las mejorías entre los períodos 2 y 1; D2 = Diferencia en las mejorías entre los períodos 3 y 2; D3, Diferencia en las mejorías entre los períodos 3 y 1.

Tabla 22. Comparación de los efectos de los tratamientos durante los períodos 1, 2 y 3 (día 14, 42 y 70) sobre las conductas ansiosas acompañadas o no de signos de agresividad en perros. Diferencia entre los tres períodos de tratamiento.

		Agresivo C: n=12; A: n=15	NAgresivo C: n=24; A: n=20	P
Clorazepato	Período 1	2.9	2.8	0.60
	Período 2	2.6	3.3	0.09
	Período 3	2.5	3.5	0.04
	D1	-0.3	0.5	0.04
	D2	-0.1	0.2	0.06
	D3	-0.4	0.7	0.01
	Cump	2.8	3.3	0.27
Alprazolam	Período 1	2.5	2.0	0.19
	Período 2	2.3	2.1	0.83
	Período 3	2.3	2.5	0.72
	D1	-0.2	0.1	0.22
	D2	0.1	0.4	0.16
	D3	-0.2	0.5	0.02
	Cump	3.1	3.0	0.90

Agresivo= Perro ansioso con agresividad; NAgresivo= Perro ansioso sin agresividad; C= Animales tratados con clorazepato; A= Animales tratados con alprazolam; P=p valor; Cump, cumplimiento de los propietarios con el plan de modificación de conducta; D1, diferencias de las mejorías entre el período 2 y 1; D2, diferencia de las mejorías entre el período 3 y 2; D3, diferencias de las mejorías entre el período 3 y 1.

6.1. BIBLIOGRAFÍA DISCUSIÓN GENERAL

Amat, M., Manteca, X., Mariotti, V., Ruiz de la Torre, J., Fatjó, J., 2009. Aggressive behavior in the English cocker spaniel. *Journal of Veterinary Behavior* 4, 111-117.

Anke, M., Arnold, W., Mullern, R., Schafer, U., 2005. Lithium and Rubidium in the food chain, intake by man, essentiality ad toxicity. *Satellite symposium on lithium Athens* 13-41.

Askew, H., 2005. Tratamiento de los problemas de comportamiento en perros y gatos. 2ª ed. Intermedica. Argentina. pp.444.

Avgustinovich, D.F., Gorbach, O.V., Kudryavtseva, N.N., 1997. Comparative analysis of anxiety-like behavior in partition and plus-maze tests after agonistic interactions in mice. *Physiology & Behavior* 61(1), 37-43.

Berthélémy, S., 2008. Oligoéléments, des microéléments pour l'oligothérapie. *Actualités Pharmaceutiques* 47(480), 22-27.

Brandish, E.K., Baldwin, D.S., 2012. Anxiety disorders. *Psychiatric disorders. Medicine* 40(11), 599-606.

Clement, Y., Chapouthier, G., 1998. Biological basis of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 22(5), 623-633.

Crowell-Davis, S., Seibert L., Sung W., Parthasarathy V., Curtis T., 2003. Use of clomipramine, alprazolam and behavior modification for treatment of storm phobia in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 6, 744-748.

Crowell-Davis, S.H., Murray, T., 2006. *Veterinary Psychopharmacology*. Blackwell Publishing, Oxford, UK. pp.51.

Dantzer, R., Momade, P., 1979. Effects of lithium on aggressive behaviour in domestic pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2, 299-303.

Ferrari, P.F., Palanza, P., Parmigiani, S., Rodgers, R.J., 1998. Interindividual variability in Swiss male mice: relationship between social factors, aggression and anxiety *Physiology & Behavior* 63(5), 821-827.

Gainetdinov, R.R., Caron, M.G., 1999. Genetic models in pharmacology: present status and future. *Pharmacological Response* 39, 403-404.

Gómez, C., Saldívar, J.A., Rodríguez, R., 2002. Modelos animales para el estudio de la ansiedad: Una aproximación crítica. *Salud mental* 25(1), 14-24.

Horwitz, D., 2006. Problemas de separación en perros. En: Horwitz, D., Mills, D., Heath, S. (EdS). *Manual de comportamiento en pequeños animales*. España. 247-261.

Kim, J.J., Diamond, D.M., 2002. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nature Reviews Neuroscience* 3(6), 453-462.

Kruk, M.R., Halász, J., Meelis, W., Haller, J., 2004. Fast positive feedback between the adrenocortical stress response and a brain mechanism involved in aggressive behavior. *Behavioral Neuroscience* 118, 1062-1070.

Kudryavtseva, N.N., Bondar, N.P., Avgustinovich, D.F., 2002. Association between experience of aggression and anxiety in male mice. *Behavioural Brain Research* 133(1), 83-93.

Landsberg, G. M., 2001. Clomipramine- beyond separation anxiety. *Journal of the American Animal Hospital Association* 37, 313-318.

Landsberg, G., Melese, P., Sherman, B., Neilson, J., Zimmerman, A., Clarke, T., 2008. Effectiveness of fluoxetine chewable tablets in the treatment of canine separation anxiety. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 3, 12-19.

Le Brech, S., Koscinczuk, P., Rossner, M., 2008. Agresividad canina. *Revista veterinaria* 19, 50–53.

Lecrubier, Y., Fessard, N., 2005. Arrêt des benzodiazépines chez des consommateurs chroniques: un essai en double insu du gluconate de lithium vs placebo. *Annales Médico-psychologiques, revue psychiatrique* 163(1), 24-29.

Ledoux, J.M., 2003. Features of the comparative pharmacokinetics of lithium, a potential application of its use in livestock farming. *Medical Hypotheses* 61(2), 278-281.

Leyris, J., Dupuis, J., 1988. Le lithium oligosol: substitution à une benzodiazépine. *Tempo Medical* 318, 48–9.

Manthey, L., 2012. Determinants and consequences of long-term benzodiazepine use. Tesis para optar al grado de Doctor. Department of Psychiatry, Faculty of Medicine Leiden University Medical Center (LUMC), Leiden University. Países Bajos.

Moore, J.A., 1995. An assessment of lithium using the IEHR evaluative process for assessing human developmental and reproductive toxicity of agents. *Reproductive Toxicology* 9(2), 175–210.

Müller, W.E., 1995. Benzodiazepin-Tranquilizer. Experimentelle und klinische Pharmakologie. In: Riederer, P., Laux, G., Po "ldinger W, eds. *Neuropsychopharmaka, Ein Therapie-Handbuch*. vol. 2, Tranquilizer und Hypnotika. Vienna: Springer-Verlag, 23–41.

Overall, K., 1996. Drugs, pets, and prozac. *Canine Practice* 21(5), 20-24.

Overall, K., 1997. Terminology in behavioral medicine. Diagnosis, necessary and sufficient conditions, and mechanism. *European Society of Veterinary Clinical Ethology Proceedings of the First International Conference on Veterinary Behavioural Medicine* 14-19.

Overall, K., 2000. Natural animal models of human psychiatric conditions: Assessment of mechanism and validity. *Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry* 24, 727-776.

Overall, K.L., 2011. That dog is smarter than you know: Advances in understanding canine learning, memory, and cognition. *Topics in Companion Animal Medicine* 26, 1–9.

Parmigiani, S., Palanza, P., Rodgers, J., Ferrari P.F., 1999. Selection, evolution of behavior and animal models of behavioral neuroscience. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 23(7), 957–970.

Prasad, V., Sheard, M.H., 1982. Effect of lithium upon desipramine enhanced shock-elicited fighting in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 17, 377–8.

Reisner, I., 1994. Use of lithium for treatment of canine dominance-related aggression. *Applied Animal Behaviour Science* 39, 183-92.

Sherman, B., Mills, D., 2008. Canine Anxieties and Phobias: An Update on Separation Anxiety and Noise Aversions. In: Landsberg G., Horwits D. *Practical Application and New Perspectives in Veterinary Behavior. Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice. Elsevier Saunders. Philadelphia* 38(5), 1081-1106.

Simpson, D., Anderson, I., 1996. Rapid tranquillisation: a questionnaire survey of practice. *Psychiatry Bulletin* 20, 149-152.

Simpson, B.S., Landsberg, G.M., Reisner, I.R., Ciribassi, J.J., Horwitz, D., Houpt, K.A., Kroll, T.L., Luescher, A., Moffat, K.S., Douglass, G., Robertson-Plouch, C., Veehouzen, M.F., Zimmerman, A., Clark, T.P., 2007. Effects of Reconcile (Fluoxetine) chewable tablets plus behavior management for canine separation anxiety. *Veterinary Therapeutics* 8, 18-31.

Viala, R., 2013. Interet du lithium á doses modérées. *La Phytothérapie Européenne* 11-16.

Woods, J.H., Katz, J.L., Winger, G.D., 1987. Abuse liability of benzodiazepines. *Pharmacological Reviews* 39, 251–419.

Woods, J.H., Katz, J.L., Winger, G., 1992. Benzodiazepines: use, abuse, and consequences. *Pharmacological Reviews* 44, 151–347.

7. CONCLUSIONES

1. El uso de benzodiacepinas permite disminuir los estados de ansiedad en los perros, lo que beneficia la implementación del plan de modificación de conducta y finalmente ayuda a disminuir los trastornos en el comportamiento.
2. La combinación de clorazepato dipotásico vía oral a dosis de 1.0 mg/kg cada 24 h durante 4 semanas y clorhidrato de fluoxetina vía oral a dosis de 1.0mg/kg durante 10 semanas, es buena para disminuir los trastornos relacionados con la ansiedad. Sin embargo, algunos perros ansiosos con signos de agresividad pueden empeorar con esta terapia, indicando así un posible riesgo en el tratamiento.
3. La dosis y frecuencia de administración del clorazepato no fue tan efectiva como se esperaba para tratar los trastornos de ansiedad en perros. Probablemente su efectividad mejoraría utilizando mayores dosis del medicamento e incrementando su frecuencia de administración.
4. La terapia combinada de alprazolam vía oral a dosis de 0.07mg/kg una vez al día durante 4 semanas y clorhidrato de fluoxetina a dosis de 1.0mg/kg vía oral se comporta mejor en los animales que tienen trastornos de ansiedad pero que no poseen signos de agresividad, lo que corrobora su acción ansiolítica. Dicha terapia no muestra ningún riesgo, ya que no empeora los signos de los perros con trastornos ansiosos acompañados de agresividad.
5. La inclusión de alprazolam y clorazepato dipotásico en el tratamiento de los desórdenes de ansiedad con fluoxetina, permite que durante la terapia, el propietario se encuentre motivado para realizar el plan de modificación de conducta, ya que dichos agentes disminuyen los signos de ansiedad y por tanto el propietario se motiva más fácilmente a realizar la terapia propuesta.
6. El gluconato de litio se comporta mejor que los agentes farmacológicos (alprazolam y clorazepato dipotásico combinados con fluoxetina) en la mejoría de los signos de agresividad asociados a la ansiedad.
7. El gluconato de litio motiva a los propietarios reticentes al uso de agente psicotrónicos para el cumplimiento de la terapia, lo que finalmente permite el éxito en el tratamiento propuesto

8. RESUMEN AMPLIADO / EXTENDED SUMMARY¹

¹ Este resumen ampliado se presenta en cumplimiento de las directrices de la normativa de desarrollo del Real Decreto 99/2011, de 28 de enero, que regula los estudios de doctorado en la Universidad Complutense de Madrid (UCM) (BOUC no 14, de 21 de diciembre de 2012) y de acuerdo con las especificaciones establecidas por la Comisión de Doctorado de la UCM.

This extended abstract is included in fulfilment of the directives of the regulation of development of the Real Decreto 99/2011, de 28 de enero, which regulates the studies of doctorate at the Universidad Complutense de Madrid (UCM) (BOUC no14, de 21 de diciembre de 2012) and in agreement with the specifications established by the Commission of Doctorate of the UCM.

INTRODUCCIÓN

Los trastornos del comportamiento son comunes en el perro doméstico. Dichos problemas pueden ser fuente de angustia para el propietario y algunas veces la única solución para ellos es entregar el cuidado del animal a un refugio (Salman *et al.*, 1998).

Los problemas de comportamiento en las mascotas en su mayoría son caracterizados y comprendidos en relación con el contexto ambiental humano en el cual se desarrollan. Los dueños establecen un vínculo estrecho con su perro y tienden a antropomorfizar sus conductas (Askew, 1996). La mayoría de las veces el problema de por sí no es la conducta del animal, sino más bien cómo ésta, afecta a su propietario. Así, algunos dueños no saben cómo mantener la conducta bajo control, pudiendo incluso empeorar el problema recompensando la conducta problemática, empleando caricias, recompensas alimenticias y/o juguetes (Askew, 2005).

En el tratamiento de los trastornos de ansiedad en perros, los procedimientos de modificación de la conducta constituyen la herramienta más importante para resolver las situaciones que crean conflicto en el animal (Hart, *et al.*, 2009). Sin embargo, autores como Simpson *et al* (2007) han demostrado la eficacia en el tratamiento de los trastornos relacionados con ansiedad en perros, al combinar agentes ansiolíticos, técnicas de modificación de conducta y planes de enriquecimiento ambiental.

Los psicofármacos se utilizan con el fin de compensar el desequilibrio en las sustancias químicas del sistema nervioso central (Ibáñez y Ánzola, 2009). El uso selectivo de psicotrópicos puede ayudar a resolver algunos problemas de comportamiento que, por una u otra razón, pueden no responder a las modificaciones de conducta y del ambiente como únicas herramientas de manejo (Hart y Cooper, 1996). Además son útiles cuando los propietarios no son capaces de seguir un plan completo para modificar la conducta o cuando el problema, necesita ser controlado en un breve período de tiempo (Hart *et al.*, 2009).

Últimamente, la medicina veterinaria ha ampliado su campo de actuación en los problemas de comportamiento y los especialistas que trabajan en el campo de la conducta animal han incorporado cada vez más sustancias empleadas en el tratamiento de la conducta humana para su uso en los animales domésticos (Overall, 1997; Ibáñez y Ánzola, 2009).

En estudios realizados por Crowell-Davis *et al* (2003) se emplearon benzodiazepinas en combinación con antidepresivos, con el propósito de que la benzodiazepina por su acción inmediata, controlara la ansiedad en el paciente, mientras que el antidepresivo alcanza los niveles necesarios para que ejerza su efecto ansiolítico.

La principal ventaja clínica de las benzodiazepinas como ansiolíticos es la inmediatez de su respuesta, aunque es fundamental conocer los posibles efectos sedativos que algunas veces pueden interferir con la terapia (Hurlé *et al.*, 2008). Los animales deben tratarse por un período de tiempo determinado, y relativamente corto, debido a sus efectos adversos (Stahl, 2009). Es por ello, que en tratamientos prolongados, es preferible emplear los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), los cuales permiten disminuir las conductas ansiosas, y carecen en menor medida de los efectos adversos de las benzodiazepinas (Mondragón *et al.*, 2010). Sin embargo, la mayor parte de los antidepresivos tardan de 4 a 5 semanas en alcanzar su efecto terapéutico (Dodman y Shuster, 2000).

Por otro lado, en los últimos años en el campo de los trastornos de ansiedad, ha cobrado especial importancia el uso de oligoelementos "elemento traza", pues éstos ayudan a prevenir algún déficit en el organismo, y poseen efectos terapéuticos (Berthélémy, 2008). En el caso del litio, éste es utilizado en dosis micromolares bajas resultando eficaz para la salud mental (Zarse *et al.*, 2011) y es por ello que el gluconato de litio es el agente más utilizado en oligoterapia para tratar los problemas de hiperansiedad e hiperexcitación (Picard, 1985).

Por lo anteriormente citado la presente tesis doctoral, ha sido realizada con la finalidad de conocer qué tipo de benzodiazepina (Alprazolam o clorazepato dipotásico) se comporta mejor al ser combinada con un antidepresivo (fluoxetina) y un plan de modificación de conducta en el tratamiento de los trastornos de ansiedad en perros. Además, busca comparar el uso de una terapia farmacológica convencional ansiolítica con una terapia complementaria (oligoterapia) utilizando gluconato de litio, con el objetivo de conocer qué tipo de tratamiento ofrece mejores resultados en los trastornos de ansiedad en perros. Finalmente, esta investigación pretende conocer de qué forma las mejorías en los signos de ansiedad obtenidas con los tratamientos propuestos, hacen que se incremente la satisfacción y cumplimiento de la terapia propuesta por parte del propietario.

PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

Debido a que la mayoría de los trastornos de ansiedad que cursan con agresividad pueden ser susceptibles de intervención farmacológica, y teniendo en cuenta que las terapias farmacológicas y complementarias permiten desarrollar adecuadamente los planes de modificación de conducta propuestos, hemos planteado la siguiente hipótesis:

La combinación de agentes farmacológicos tales como las benzodiacepinas (alprazolam o clorazepato dipotásico) y el clorhidrato de fluoxetina, y el uso de oligoelementos como el gluconato de litio, permiten disminuir los estados de ansiedad que cursan con o sin agresividad en los perros, permitiendo realizar el plan de modificación de conducta adecuadamente, lo que incrementa la satisfacción y cumplimiento de la terapia por parte del propietario.

Por otro lado, sabiendo que la utilización de un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS) (fluoxetina) permite el control de los signos psíquicos de la ansiedad, y conociendo que las benzodiacepinas son más efectivas en el tratamiento de los signos somáticos de los trastornos ansiosos, en este estudio se plantearon los siguientes objetivos:

Conocer qué tipo de benzodiacepina (alprazolam o clorazepato dipotásico) se comporta mejor al utilizarla en un protocolo de terapia combinada con un ISRS (fluoxetina) y un plan de modificación de conducta, en el tratamiento de los trastornos de ansiedad en perros.

Comparar una terapia farmacológica convencional ansiolítica con una terapia complementaria (oligoterapia) utilizando el gluconato de litio, para conocer qué terapia ofrece mejores resultados frente a los trastornos de ansiedad acompañados o no de signos de agresividad en perros.

Conocer la relación existente entre las mejorías encontradas en los signos de ansiedad y de agresividad, y la satisfacción y cumplimiento del propietario con la terapia propuesta.

MATERIALES Y METODOS

En la presente tesis doctoral se realizaron tres estudios experimentales. Diferentes razas de perros estuvieron representadas y la edad de los animales estuvo comprendida entre los 8 meses y 7 años. A todos los animales se les realizó un examen físico-clínico completo con el objetivo de establecer su estado de salud y condición corporal. Todos los propietarios de los animales incluidos en el estudio, reportaron como motivo de consulta la presencia de signos de ansiedad acompañada o no de conductas agresivas en su perro.

Todos los animales del estudio fueron divididos en dos categorías diagnósticas, perros ansiosos con agresividad y perros ansiosos sin agresividad. Los procedimientos realizados con los animales, estuvieron de acuerdo con la legislación nacional española y europea de protección animal (directiva 86/609/EEC, Real Decreto 53/2013) y los propietarios fueron informados estando de acuerdo con participar en el estudio.

Trabajo de investigación I

Treinta y seis perros diagnosticados con una variedad de trastornos del comportamiento fueron incluidos en este estudio, de los cuales 13 eran hembras y 23 machos (todos enteros). Los perros fueron evaluados en el centro de comportamiento animal de la Universidad Complutense de Madrid, y su historia clínica y de comportamiento se obtuvo a través de un cuestionario estandarizado (Overall, 1997).

Los perros que participaron en el estudio mostraron una amplia variedad de trastornos tanto de ansiedad (ansiedad por separación, ansiedad generalizada, miedos, fobias, y trastornos compulsivos) como de agresividad (agresividad por miedo, agresividad por dominancia, agresividad relacionada con la comida y agresividad entre perros).

Posteriormente los animales se dividieron en 2 categorías: 1. perros ansiosos con agresividad (n=12) y 2. perros ansiosos sin agresividad (n=24). A su vez los 36 perros fueron divididos en jóvenes (<3 años, n=20) y adultos (≥ 3 años, n= 16). Igualmente según su sexo se dividieron en hembras (n= 13) y machos (n=23).

Todos los perros de este estudio recibieron clorazepato dipotásico vía oral a dosis de 1.0 mg/kg cada 24 h durante 4 semanas junto con clorhidrato de fluoxetina, la cual fue administrada vía oral a dosis de 1.0 mg/kg durante 10 semanas.

El mismo día tras comenzar con el tratamiento farmacológico, se prescribió un plan de modificación de conducta (Overall, 2001; Ibáñez y Ánzola, 2009). El plan comprendía tres etapas complementarias diseñadas para detener los comportamientos no deseados y recompensar aquellos comportamientos deseados.

En la primera fase el propietario no debía recompensar de forma involuntaria los comportamientos no deseados. En la segunda fase, siguieron un programa de modificación de conducta pasivo, donde se le enseñó al perro a sentarse en silencio, y esperar a las señales. Si el animal realizaba un comportamiento apropiado debía ser recompensado. En la misma fase los perros recibieron entrenamiento en obediencia básica con la cual se pretendió recompensar los comportamientos relajados, eliminar el refuerzo no intencional de las conductas ansiosas, implementar una rutina de comida y horarios de juego, y finalmente dedicar 20 minutos al día a jugar, o interactuar activamente con el perro. Finalmente en la tercera fase, se le pidió a los dueños que comenzaran el plan de modificación de conducta activo, el cual está diseñado para enseñar al perro a relajarse y recompensarlo con comida o juego (Overall, 2001).

Trabajo de investigación 2

Treinta y cinco perros (19 machos y 16 hembras) se diagnosticaron con una serie de trastornos del comportamiento relacionados con ansiedad. Al igual que en el trabajo de investigación 1, los veterinarios especialistas en etología clínica realizaron un cuestionario durante la consulta, con el objetivo de corroborar el motivo de consulta relacionado con alteraciones ansiosas. Dichas alteraciones podían o no estar relacionadas con agresividad, aunque los signos de ansiedad siempre debían estar presentes.

Posteriormente los perros fueron agrupados en dos categorías: perros ansiosos con agresividad (n=15) y perros ansiosos sin agresividad (n=20). Diferentes trastornos de ansiedad (ansiedad por separación, miedos, ansiedad generalizada, miedo a ruidos, trastornos compulsivos y miedo a otros perros) y agresividad (agresividad se representaron en la agresividad posesiva, por miedo, durante el juego, por dominancia y entre perros) estuvieron representados.

El tratamiento farmacológico que se administró a los animales de este estudio fue alprazolam vía oral a una dosis de 0.07mg/kg, una vez al día durante 4 semanas y

simultáneamente se administró clorhidrato de fluoxetina a dosis de 1.0 mg/kg vía oral cada 24h durante 10 semanas.

Al igual que en el trabajo anterior, todos los perros recibieron el mismo plan de modificación de conducta. Lo que a su vez permitió un entrenamiento básico de obediencia para mejorar la confianza y la relación con el propietario, fue el mismo descrito en el trabajo de investigación 1 (Overall, 2001; Ibáñez y Ánzola, 2009).

Trabajo de investigación 3

Ciento treinta y cinco perros fueron incluidos en este estudio (54 hembras y 81 machos; 52 jóvenes, 83 adultos y 81 animales enteros y 54 castrados). Después de pasar la consulta de comportamiento y obtener el historial clínico, los animales incluidos fueron los que presentaban algún tipo de desorden relacionado con ansiedad acompañado o no de signos de agresividad. Posteriormente los animales fueron divididos en dos categorías diagnósticas (perros ansiosos sin signos de agresividad y perros ansiosos con signos de agresividad) y en 3 grupos de 45 animales elegidos al azar. El primer grupo (T1) recibió un tratamiento con gluconato de litio a dosis de una ampolla (2ml) vía oral tres veces al día durante 10 semanas. El segundo grupo (T2) recibió una combinación de psicofármacos (alprazolam - clorhidrato de fluoxetina) y el tercer grupo (TC) se tomó como grupo control, no recibiendo ningún otro tratamiento más que el plan de modificación de conducta (PMC). Al igual que en los trabajos de investigación 1 y 2, todos los animales del estudio recibieron simultáneamente durante 10 semanas la aplicación por parte de los propietarios de un plan de modificación de conducta (Overall *et al.*, 2001; Ibáñez y Ánzola, 2009).

Evaluación en la mejoría de los signos

En los tres trabajos de investigación durante las 10 semanas de tratamiento se realizó un seguimiento y se evaluaron las mejorías de los signos de ansiedad. Se recogió la información suministrada por los propietarios en tres períodos de tiempo: período 1 (día 14); período 2 (día 42); y período 4 (día 70). Dicha información fue recolectada por veterinarios, los cuales fueron entrenados para recoger la información sin conocimiento previo de las respuestas del perro a la terapia.

Los resultados se catalogaron como: 1, empeoraron (E); 2, sin cambios (SC); 3, ligera mejoría (LM); 4, mejoría moderada (MM); y 5, gran mejoría o eliminación (GM). Por otro

lado, durante el período de seguimiento, los propietarios de los perros fueron preguntados acerca de su conformidad con el programa de tratamiento planteado. Al final de cada período (días 14, 42 y 70), se les hizo una serie de preguntas estándar para discutir el progreso del tratamiento y su conformidad con la terapia. El cumplimiento del propietario fue evaluado como: 1, inadecuado; 2, variable; 3, bueno; y 4, excelente (Seksell y Lindeman, 2001).

Análisis Estadístico

Los datos de los tres trabajos experimentales no tuvieron una distribución normal, por lo tanto fueron analizados utilizando pruebas no paramétricas. Los valores obtenidos durante cada período de tratamiento (períodos 1, 2 y 3) fueron comparados mediante la prueba de suma de rangos de Wilcoxon. Posteriormente se utilizó la prueba de coeficientes de correlación de Spearman para determinar la interacción entre la conformidad del propietario y las mejorías encontradas en cada período de tratamiento. Todos los análisis se realizaron mediante el software SAS (SAS, 1999).

RESULTADOS

Trabajo de investigación 1

En el caso de los perros ansiosos con agresividad existieron mejorías más significativas en los signos de ansiedad que en los perros ansiosos sin agresividad al final del periodo 3 de tratamiento (70 días tras el comienzo de la terapia; $P=0.04$). Igualmente se observaron diferencias significativas ($P<0.05$) en las mejorías de los signos de los perros entre los períodos 2 y 1 (D1) y entre los períodos 3 y 1 (D3) ($P< 0.01$). Sin embargo, no hubo diferencias significativas ($P>0.05$) entre machos y hembras, o entre jóvenes y adultos.

De los 36 perros estudiados, el 13.39% mostraron grandes mejorías o resolución clínica. Además, el 25.00% de los perros mostraron mejoría moderadas y el 30.56% tuvieron ligeras mejorías. No se observó ningún cambio en el 22.22% de los perros y se tuvo un 8.33% de perros que empeoraron. Del grupo de perros agresivos, 50% mejoraron, 25% empeoraron, y otro 25% no mostró ningún cambio. Aproximadamente el 80% de los perros con estados de ansiedad mostraron algún tipo de mejoría, el 20% no mostraron cambios, y ninguno de ellos empeoró

En cuanto a los dos tipos de trastornos diagnosticados, el 50% de los perros con agresividad mostraron mejorías moderadas o ligeras, pero el 25% empeoró. También observamos que el 80% de los perros con agresividad por miedo mejoraron, mientras que los perros con otros tipos de agresividad empeoraron. En el grupo de los perros ansiosos sin agresividad, observamos mejoría en todas las categorías de comportamiento.

Finalmente los coeficientes de correlación de Spearman mostraron una correlación moderada entre el cumplimiento y la satisfacción del propietario con las mejorías de los signos de ansiedad obtenidas durante el período 1 ($P=0.03$; $r=0.36$). Esto mismo ocurrió durante los períodos 2 ($r = 0.76$) y 3 ($r = 0.79$); ($P < 0.0001$).

Trabajo de investigación 2

Este estudio muestra diferencias significativas ($P<0.02$), durante el período D3 de tratamiento (día 70) para ambas categorías diagnósticas, y aunque los períodos D1 (día 14) y D2 (día 42) no presentaron diferencias significativas, se puede notar que el período D2 tiene un valor de P ligeramente menor, aunque esto no es suficiente para poder establecer en cuál de los dos períodos, el tratamiento se comportó mejor. Por otro lado, al igual que en el trabajo de investigación anterior no existieron diferencias significativas entre machos y hembras o entre los grupos de edad que estuvieron representados.

Con respecto a las respuestas clínicas, en 13 perros (37.14%) pertenecientes a las dos categorías diagnósticas, se obtuvo una mejoría grande o moderada, y en 14 perros (40%) se consiguió una ligera mejoría. Por lo tanto, al final de la terapia (D3), el 77.14% de los perros mostraron algún tipo de mejoría en los signos reportados durante la consulta de comportamiento. Sin embargo, 8 perros (22.86%) no mostraron ningún cambio, aunque cabe destacar que ningún animal empeoró.

Once de los 15 perros ansiosos con agresividad (73.33%) mostraron mejorías. Sin embargo, el grupo de perros ansiosos sin agresividad, tuvo mejorías del 80.00% (16 de 20 perros tratados).

Finalmente los coeficientes de correlación Spearman revelaron en este trabajo una correlación positiva y significativa entre el cumplimiento y la conformidad de los dueños con el tratamiento y los valores obtenidos para la mejoría encontradas en cada período de

seguimiento (período 1, $r=0.55$, $P=0.0007$; período 2, $r= 90.70$, $P<0.0001$; y período 3, $r=0.81$, $P<0.0001$).

Trabajo de investigación 3

De los perros estudiados (135) el 39.26% ($n= 53$) presentaron signos de ansiedad acompañados de agresividad, mientras que el 60.74% ($n= 82$) presentaron signos de ansiedad sin agresividad. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en cuanto al sexo, edad y estado reproductivo respecto a los tratamientos utilizados, no obstante existe una tendencia de que los tratamientos T1 y T2 producen mejoría en los signos de ansiedad en animales adultos ($P = 0.12$), machos ($P = 0.15$) y enteros ($P = 0.14$). Por otro lado, no encontramos diferencias significativas ($P > 0.05$) en las mejorías de los signos en ninguna de las dos categorías diagnosticas en función del tratamiento utilizado con respecto a los diferentes períodos de tratamiento (período 1, 2 y 3). Sin embargo, diferencias significativas ($P = 0.04$) se observaron en las diferencias en el período D2 y en los animales ansiosos con signos de agresividad en el período D3 ($P = 0.03$).

En esta investigación los tres tratamientos (T1, T2 y TC) se comportaron bien, pues en todos los casos los animales mostraron algún tipo de mejoría (GM, MM, y LM) y en ningún caso se observaron empeoramientos (E). En el grupo de animales ansiosos con agresividad, el tratamiento T1 ha supuesto una mejoría del 100% de los perros estudiados, y un porcentaje elevado de los animales (23.82%) tuvieron una gran mejoría (GM). Sin embargo, en los otros dos tratamientos (T2 y TC) no se encontraron casos con grandes mejorías.

Estos datos sugieren que el T1 presenta un buen comportamiento en la categoría de perros ansiosos con agresividad, mientras que el tratamiento T2 se comporta mejor en la categoría de perros ansiosos sin agresividad ya que es el único tratamiento que presenta grandes mejorías (6.45%), además de que un 58,06% de los perros presentaron moderadas mejorías, y el índice de perros que no presentaron cambios es el más bajo (19.35%). En el grupo control (TC) no se encontraron grandes mejorías en ninguna de las dos categorías estudiadas, y el porcentaje de animales que no presentó ningún cambio es bastante elevado (38.88 y 33.33%).

Finalmente el coeficiente de correlación de Spearman reveló, que al final del estudio (día 70), existió una correlación significativa entre el cumplimiento del propietario y las mejorías

en los signos obtenidas en el grupo de animales tratados con T1 ($r = 0.43$) ($P = 0.001$). Sin embargo, para el grupo de animales tratados con TC y T2 no existió correlación significativa ($r = 0.16$) ($P = 0.30$); ($r = 0.16$) ($P = 0.28$) respectivamente.

DISCUSIÓN GENERAL

La ansiedad es una respuesta normal que el organismo lleva a cabo frente a situaciones de amenaza o a procesos de estrés. Por lo general es transitoria y controlable, pues probablemente representa el sistema de ‘alarma’, que permite preparar al organismo para llevar a cabo una serie de respuestas físicas y emocionales frente al peligro. Sin embargo, los trastornos patológicos relacionados con ansiedad son diagnosticados cuando el individuo experimenta una serie de signos físicos y mentales durante largos períodos de tiempo, provocando dichos signos un malestar significativo y asociándose con un claro deterioro orgánico (Brandish y Baldwin, 2012).

Debido a la carencia de investigaciones actuales acerca del tratamiento de los trastornos de ansiedad en los perros, la presente tesis doctoral se planteó con el objetivo de conocer qué tipo de medicación se comporta mejor frente a los trastornos de ansiedad en perros y cuál de ellas permite desarrollar con éxito un plan de modificación de conducta. Por otro lado, debido a que los perros poseen sistemas sociales prácticamente idénticos a los sistemas de relación humana, y sabiendo que el perro es uno de los modelos animales más utilizados en el estudio de la ansiedad, su utilización no sólo proporciona oportunidad para comprender la ansiedad humana sino también para ayudar a mejorar la relación entre el propietario y su animal de compañía (Overall, 2000).

No hay que olvidar que la ansiedad generalmente acompaña a la mayoría de los trastornos de conducta del perro doméstico (Overall, 1997 a), lo que evidencia una clara relación entre el estado ansioso y la presentación de conductas agresivas en diferentes especies animales (Avgustinovich et al., 1997; Clement y Chapouthier, 1998; Ferrari et al., 1998; Parmigiani et al., 1999), pues diversas investigaciones muestran cómo la mayoría de los animales agresivos presentan altos niveles de ansiedad (Ferrari et al., 1998) y generalmente un animal ansioso es agresivo (Kudryavtseva et al., 2002). Debido a estas afirmaciones, en los trabajos de investigación desarrollados para la presente tesis doctoral, se buscó conocer qué tipo de terapia farmacológica y de conducta ofrece mejores resultados en animales que no sólo presentan estado de ansiedad, sino también estados de ansiedad acompañados de signos de

agresividad, ya que éstos, suponen un alto impacto en la relación humano-animal, la salud pública y el bienestar de los animales (Le Brech et al., 2008, Amat et al., 2009; Kruk et al., 2004).

Autores como Simpson et al (2007) reportan la necesidad de una terapia combinada, de un plan de modificación de conducta unido a una terapia farmacológica. Es así como esta investigación se propuso establecer una terapia farmacológica combinada apropiada, que permita no sólo la respuesta positiva del animal, sino también lograr la motivación suficiente del cliente para llevar a cabo un plan de tratamiento de modificación de la conducta, el cual permita lograr una mejoría de los signos de ansiedad en los perros que poseen trastornos de ansiedad.

Sin embargo, durante el planteamiento de la hipótesis de este trabajo fue necesario tener en cuenta que la mayoría de los agentes psicótrópos comienzan su efecto tras 4 o 5 semanas de tratamiento y debido a la necesidad de que el propietario se sintiera motivado desde el inicio a realizar el plan de modificación de conducta, se decidió utilizar una terapia combinada con un ISRS (fluoxetina) y una benzodiacepina (clorazepato o alprazolam), pues la acción inmediata de estos últimos, permite controlar los signos de ansiedad mientras el antidepresivo, en este caso fluoxetina, alcanza los niveles necesarios para ejercer su efecto ansiolítico, tal como se reporta en estudios realizados por Crowell-Davis et al (2003).

Los resultados de estos estudios muestran cómo al utilizar la terapia combinada con alprazolam y al realizar estadísticamente la correlación de Spearman para conocer la relación entre la mejoría en los signos clínicos y el cumplimiento y conformidad del propietario con la terapia propuesta, los valores son significativos para los tres períodos de tratamiento (día 14, 42 y 70), es decir, que no sólo el propietario estuvo satisfecho durante la primera parte del tratamiento con la terapia de alprazolam-fluoxetina, sino que igualmente se mostró conforme hasta el final de la terapia. Sin embargo, otra posible interpretación a realizar, es que los propietarios que participaron en este estudio tuvieron algún tipo de influencia de efecto placebo, lo que hizo que posiblemente se mostraran más conformes a lo largo del tratamiento. Estos resultados contrastan con los resultados obtenidos en el trabajo donde se utilizó clorazepato, pues éste mostró una correlación de Spearman moderada al inicio del tratamiento (día 14), lo que puede indicar que el propietario no percibió como altamente satisfactorios los efectos del tratamiento farmacológico durante el período 1 al utilizar clorazepato. Sin embargo, a medida que aumentó el tiempo de tratamiento (día 42 y 70) los

propietarios se mostraron altamente conformes, mostrando valores de P significativos ($P = 0.0001$), lo que puede corroborar que a medida que avanza el tratamiento, la terapia va mejorando los signos clínicos y el cliente incrementa su conformidad.

Cabe destacar que en general la terapia combinada de agentes farmacológicos junto al plan de modificación de conducta se comportó de forma satisfactoria, sin embargo, al analizar los resultados del trabajo de investigación 2, donde se utilizó alprazolam en la terapia combinada, el 77.14% de los perros de ambas categorías diagnósticas mostraron algún tipo de mejoría, lo que contrasta con los datos obtenidos en el trabajo de investigación 1 (utilizando clorazepato), pues el total de animales que presentó mejorías estuvo representado en un 68.95%, lo que puede sugerir que los signos de ansiedad en los perros mejoran en mayor o en menor medida utilizando alprazolam dentro de la terapia combinada. Por otro lado, es importante tener en cuenta que el clorazepato es más sedativo que alprazolam lo que pudo haber interferido en la realización del plan de modificación de conducta por parte del animal, lo que finalmente podría haber alterado la respuesta al tratamiento y por ello el porcentaje de mejorías encontradas en los animales al utilizar alprazolam fue mayor. Sin embargo, es difícil afirmar que todos los animales estaban bajo los efectos sedativos, debido a que los propietarios no suministraron información al respecto, posiblemente debido a que se les dificultó diferenciar estados de tranquilidad y de sedación.

Uno de los posibles problemas que se pueden encontrar al administrar benzodiazepinas, es que exista un empeoramiento y/o desinhibición en la conducta agresiva (Müller, 1995; Crowell-Davis y Murray, 2006). En ninguno de los trabajos de investigación existió desinhibición en la conducta agresiva, sin embargo, para el caso del clorazepato los propietarios no suministraron datos suficientes que permitiesen corroborarlo.

Al analizar qué porcentaje de animales empeoró (E), un 8.33% de los perros tratados con clorazepato mostró un empeoramiento en los signos reportados, lo que contrasta con los resultados obtenidos al utilizar alprazolam, pues durante las 4 semanas de tratamiento con dicho medicamento no hubo reporte por parte de los propietarios de un empeoramiento en los signos ansiosos. Es decir que el 8.33% de los perros de la categoría ansiosa con agresividad que empeoró al utilizar clorazepato y el 22.22% de los perros de ambas categorías diagnósticas que no mostró ninguna mejoría en sus signos, pudieron deberse a factores externos difíciles de controlar, tal como es el caso de estímulos externos medio

ambientales, relación alterada entre propietario y animal y/o errónea aplicación del plan de modificación de conducta.

Finalmente, tal como citan diferentes autores los medicamentos psicotrópicos poseen ciertas desventajas y efectos secundarios (Woods et al., 1992; Simpson y Anderson 1996; Manthey, 2012) que hacen que los propietarios rehúsen de su utilización. Para lo cual se planteó la comparación de la terapia farmacológica convencional y una terapia basada en la utilización de oligoelementos, concretamente gluconato de litio, ya que diversos estudios demuestran su eficacia para tratar los trastornos relacionados con ansiedad tanto en animales como en humanos (Dantzer y Momade, 1979; Reisner, 1994; Moore, 1995; Ledoux, 2003; Anke et al., 2005; Viala, 2013).

Nuestros resultados muestran como el gluconato de litio, a dosis de oligoterapia, durante las 10 semanas de tratamiento acompañado del plan de modificación de conducta propuesto permite que los animales ansiosos-agresivos muestren mejorías en todos los casos. Por otro lado, el tratamiento con litio muestra un porcentaje considerable de grandes mejorías (GM) en la categoría de los perros ansiosos con agresividad (23.82%), lo que no ocurrió con los otros tratamientos. Sin embargo, hay que tener en cuenta que debido a que la mayoría de los propietarios tienen preferencia actualmente por compuestos que no sean de origen medicamentoso, pudieron haber suministrado información sesgada al respecto.

Es importante que en futuras investigaciones se estudien posibles diferencias entre los tratamientos, y la motivación del propietario. Por ejemplo, en esta investigación los propietarios estuvieron más conformes con la administración del tratamiento con oligoelemento litio a lo largo de todo el tratamiento (correlación de Spearman altamente significativa entre las mejorías de los signos clínicos y la satisfacción y cumplimiento de la terapia por parte del propietario ($r=0.43$; $P= 0.001$)).

Este hallazgo puede tener un impacto sobre la realización de la terapia combinada, pues el propietario al estar más conforme, posiblemente realice con eficacia la terapia planteada, lo que finalmente se verá reflejado al final de todo el tratamiento. Por otro lado, en los animales pertenecientes a la categoría de perros ansiosos sin agresividad, al utilizar el oligoelemento litio no se reportaron grandes mejorías (GM) por parte del propietario, incluso se puede observar que para esta categoría de perros, el tratamiento donde se utilizó alprazolam mostró grandes mejorías en un 6.45 % de los perros tratados; y al comparar las

mejorías totales reportadas por los propietarios de perros ansiosos sin agresividad, el porcentaje más bajo se encontró en el oligoelemento litio (41,66%). Este hallazgo podría llevar a afirmar que la terapia combinada con una benzodiazepina del tipo alprazolam es más efectiva para los perros ansiosos que no presentan estados de agresividad, lo que contrasta con la utilización del oligoelemento litio, el cual se muestra altamente eficaz para mejorar todos los signos de los perros ansiosos que tienen agresividad (100 % de mejorías).

Por otro lado, los propietarios no reportaron ningún signo de sedación, desinhibición de la conducta agresiva o tolerancia, al utilizar gluconato de litio, lo que corrobora la baja posibilidad de la presentación de efectos secundarios al utilizar dicho oligoelemento (Berthélémy, 2008), además de comprobar su no interferencia con los niveles de actividad e interacción social de los perros, tal como ocurre con estudios realizados en ratones por Prasad y Sheard (1982).

Finalmente estos trabajos corroboran la necesidad de implementar un plan de modificación de conducta que acompañe el tratamiento de los estados ansiosos, pues por sí solo el plan de modificación conductual no demostró grandes mejorías (GM) en los signos clínicos para los perros de las dos categorías diagnósticas.

A la vista de los resultados podemos sugerir que un plan combinado de agentes farmacológicos y terapia de modificación conductual se muestra efectivo para tratar los trastornos de ansiedad en perros, ya que permite que el propietario se encuentre satisfecho con los resultados y esté más motivado para realizar la terapia conductual, lo que finalmente terminará mejorando los signos ansiosos. Sin embargo, es importante conocer las diferentes limitaciones que poseen los agentes farmacológicos y el plan de modificación de conducta por sí solos, y por ello, el gluconato de litio, a dosis de oligoterapia se plantea como una alternativa novedosa para los casos donde los propietarios rechazan el uso de agentes psicotrópicos además de mejorar considerablemente los signos de ansiedad que cursan con agresividad en los perros.

INTRODUCTION

Behavioral disorders are common in domestic dogs. These problems can be a source of trouble for the owner and sometimes the only solution for them is to take the animal to a shelter (Salman *et al.*, 1998).

Most behavioral problems in pets are characterized and understood by the human context where they develop. The owners establish a close bond with their dogs and tend to anthropomorphize their behavior (Askew, 1996). Most of the times the problem itself is not the behavior of the animal, but rather how it affects its owner. Therefore, some owners do not know how to keep under control the problematic behavior, and they may even worsen the problem by rewarding, using touch, food and / or toys (Askew, 2005).

In the treatment of anxiety disorders in dogs, behavior modification methods are the most important tool to solve the situations, which may create a conflict in the animal (Hart, *et al.*, 2009). However, authors like Simpson *et al* (2007) have proved the efficacy of treating anxiety disorders in dogs by combining anxiolytic agents, behavior modification techniques and environmental enrichment plans.

Psychotropic drugs are used in order to compensate the imbalance in the chemicals of the central nervous system (Ibáñez and Ánzola, 2009). Selective use of psychotropic drugs can help solve some behavioral problems that, for some reason, may not respond to the behavioral and environmental changes as unique management tools (Hart and Cooper, 1996). They are also useful when owners are not able to follow a complete plan to modify behavior or when the problem needs to be controlled in a short period of time (Hart *et al.*, 2009).

Veterinary medicine has expanded its field of action in behavioral problems, and specialists working in this field have incorporated medical treatment used in solving human behavior problems to solve pet behaviour disorders (Overall, 1997; Ibáñez and Ánzola, 2009).

In studies by Crowell-Davis *et al* (2003) benzodiazepines were used in combination with antidepressants, in order to control anxiety in the patient, thanks to the immediate action of the benzodiazepine while the antidepressant reached the necessary levels to exert its anxiolytic effect.

The main clinical advantage of benzodiazepines as anxiolytics is the immediacy of their response, although it is essential to know the possible sedative effects that can sometimes interfere with therapy (Hurlé *et al.*, 2008). The animals should be treated for a relatively short period of time due to its adverse effects (Stahl, 2009). It is for this reason that prolonged treatment is preferable to employ selective reuptake inhibitors (SSRIs), which allow to reduce anxious behavior, and lack, to a lesser extent, the adverse effects of benzodiazepines (Mondragon *et al.*, 2010). However, most antidepressants take 4 to 5 weeks to reach their therapeutic effect (Dodman and Shuster, 2000).

Furthermore, in recent years, the use of trace elements in the field of anxiety has become especially important as these help prevent deficit in the body cause by the anxiety disorder, and have therapeutic effect (Berthélémy, 2008a). In the case of lithium, it is used at low micromolar doses resulting effective for mental health (Zarse *et al.*, 2011) and that is why gluconate lithium is the most commonly used agent in oligotherapy to treat hyperanxiety and hyperarousal problems (Picard, 1985).

Because of the aforementioned, this thesis has been carried out in order to know what type of benzodiazepine (alprazolam or clorazepate) behaves better when combined with an antidepressant (fluoxetine) and a behavior modification plan in the treatment of anxiety disorders in dogs. It also seeks to compare the use of conventional anxiolytic drug therapy with a complementary therapy (oligotherapy) using lithium gluconate, in order to know what kind of treatment offers better results in anxiety disorders in dogs. Finally, this research aims to determine how the improvement in anxiety signs with the proposed treatment, increases the owner's satisfaction and compliance.

APPROACH AND OBJECTIVES

Because most anxiety disorders that occur with aggression may be susceptible to pharmacological intervention, and considering that the pharmacological and complementary therapies allow adequate development of the proposed behavior modification plans, we have proposed the following hypothesis:

The combination of pharmacological agents such as benzodiazepines (alprazolam or clorazepate) and fluoxetine hydrochloride, and the use of trace elements such as gluconate lithium, allow to decrease the anxiety states that occur with or without aggression in dogs,

allowing to follow adequately the behavior modification plan, increasing the owner's satisfaction and compliance with the therapy.

Furthermore, knowing that the use of a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) (fluoxetine) allows the control of psychic signs of anxiety, and knowing that benzodiazepines are effective in the treatment of somatic signs of anxiety disorders, we proposed the following objectives for this study:

To know what type of benzodiazepine (alprazolam or clorazepate) behaves better when used in a protocol of combined therapy with an SSRI (fluoxetine) and a behavior modification plan, in the treatment of anxiety disorders in dogs.

To compare conventional anxiolytic drug therapy with a complementary therapy (oligotherapy) using lithium gluconate, to know which therapy offers better results against anxiety disorders with or without aggression signs in dogs.

To Know the relationship between the improvement as the anxiety signs and aggressiveness, and owner satisfaction and compliance with the proposed therapy.

MATERIALS AND METHODS

In this thesis we developed three different experimental studies. In all the studies different breeds of dogs were represented and their age was between 8 months and 7 years. All animals received a complete physical-clinical examination with the objective of establishing their health and body condition. All owners of the animals included in the study, reported the presence of anxiety signs with or without aggressive behavior in their dogs.

All animals in the study were divided into two diagnostic categories, anxious dogs with aggression, and anxious dogs without aggression. The procedures performed with animals, respected the Spanish and European animal protection legislation (Directive 86/609 / EEC, Royal Decree 53/2013) and the owners were informed, agreeing to participate in the study.

Research work 1

Thirty-six dogs diagnosed with a variety of behavioral disorders were included in this study, of which 13 were females and 23 males (all not neutered). Dogs were evaluated at the

center of animal behavior at Complutense University of Madrid, both medical and behavioral history were obtained through a standardized questionnaire (Overall, 1997).

The dogs that participated in the study showed a wide variety of disorders, both anxiety (separation anxiety, generalized anxiety, fears, phobias, and compulsive disorders) and aggressiveness (fear aggression, dominance aggression, aggression associated with food and aggression between dogs).

Later, the animals were divided into 2 categories: 1. anxious dogs with aggression (n=12) and 2. anxious dogs without aggression (n=24). In turn, the 36 dogs were divided into young (<3 years, n=20) and adults (≥ 3 years, n=1). Also, according to sex, they were divided into females (n=13) and males (n=23).

All dogs in this study received clorazepate dipotassium orally at doses of 1.0 mg / kg every 24 h for 4 weeks with fluoxetine hydrochloride, which was administered orally at doses of 1.0 mg / kg for 10 weeks.

The same day after starting drug treatment, a behavior modification plan was prescribed (Overall, 2001; Ibáñez and Ánzola, 2009). The plan included three complementary steps designed to stop unwanted behavior and reward those desired behaviors.

In the first phase, the owner should not reward unwanted behaviors inadvertently. In the second phase, they followed a program of passive behavior modification, where they taught the dog to sit quietly and wait for the signals. If the animal performed an appropriate behavior, it should be rewarded. In the same phase the dogs were trained in basic obedience, as well as reward relaxed behaviors, eliminate unintentional reinforcement of anxious behaviors, implement a routine of food and play schedules, and eventually spend 20 minutes a day to play or actively interact with the dog. Finally in the third phase, the owners were asked to begin the active behavior modification, which is designed to teach the dog how to relax and reward it with food or game (Overall, 2001).

Research work 2

Thirty-five dogs (19 males and 16 females) were diagnosed with a number of behavioral disorders related to anxiety. As in the research 1, a veterinary specialised in clinical ethology conducted a questionnaire during the consultation, in order to confirm that the reason of

consultation was related to anxious alterations. Such alterations may or may not be related to aggressiveness, although signs of anxiety had to be present.

Afterwards, the dogs were grouped into two categories: Anxious dogs with aggression (n=15) and anxious dogs without aggression (n=20). Different anxiety disorders (separation anxiety, fear, generalized anxiety, fear of noises, compulsive disorders and fear of other dogs) and aggressive signs (possessive aggression, because of fear, during the game, dominance and between dogs) were presented.

The pharmacological treatment that was administered to the animals of this study was alprazolam orally at a dose of 0.07mg / kg, once a day for 4 weeks and simultaneously fluoxetine hydrochloride administered at doses of 1.0 mg / kg orally every 24h for 10 weeks.

As in the previous work, all dogs received the same behavior modification plan. Which included basic obedience training to improve trust and relationship with the owner more details are described in the research paper 1 (Overall, 2001; Ibáñez and Ánzola, 2009).

Research work 3

One hundred and thirty five dogs were included in this study (54 females and 81 males; 52 young, 83 adults and 81 no neutered and 54 neutered animals). After passing the behavior consultation and obtaining the medical history, the animals included were those with some kind of disorder related to anxiety, with or without signs of aggressiveness. Later, the animals were divided into two diagnostic categories (anxious dogs without signs of aggression and anxious dogs with signs of aggression) and 3 groups of 45 animals randomly selected. The first group (T1) received treatment with lithium gluconate dose of one ampoule (2ml) orally three times a day for 10 weeks. The second group (T2) received a combination of psychotropic drugs (alprazolam - fluoxetine hydrochloride) and the third group (TC) was taken as a control group receiving only the behavior modification plan (PMC). As in research 1 and 2, all animals in the study received simultaneously for 10 weeks the application of a behavior modification plan by the owners (Overall *et al.*, 2001; Ibáñez and Ánzola, 2009).

Evaluation in the improvement of signs

In the three research works during the 10 weeks of treatment, the animals were followed, and the improvement in anxiety signs were evaluated. The information provided by the owners was collected in three time periods: Period 1 (day 14); Period 2 (day 42); and Period 4 (Day 70). This information was collected by veterinarians, who were trained to collect the information without prior knowledge of the dog's responses to therapy.

The results were categorized as: 1, worsened (W); 2 unchanged (UN); 3 slight improvement (SI); 4 moderate improvement (MI); and 5 great improvement or elimination (LI). Furthermore, during the monitoring periods, the dog owners were asked about their compliance with the proposed treatment program. At the end of each period (days 14, 42 and 70), they were asked a series of standard questions to discuss the progress of the treatment and compliance with the therapy. The owner compliance was evaluated as: 1, inadequate; 2 Variable; 3 good; and 4 excellent (Seksell and Lindeman, 2001).

Statistic analysis

The data of the three experimental work were not normally distributed, therefore they were analyzed using nonparametric tests. The values obtained during each treatment period (periods 1, 2 and 3) were compared by the test of Wilcoxon rank sum. Then, the Spearman correlation coefficients test was used to determine the relation between owner conformity and improvement found in each treatment period. All analyzes were performed using SAS software (SAS, 1999).

RESULTS

Research work 1

In the case of anxious dogs with aggression there were more significant improvement in signs of anxiety than in anxious dogs without aggression at end of period 3 of the treatment (70 days after the start of therapy; $P = 0.04$). Equally significant differences were observed ($P < 0.05$) in the improvement of dogs between periods 2 and 1 (D1) and between periods 3 and 1 (D3) ($P < 0.01$). However, there were no significant differences ($P > 0.05$) between males and females or between young and adults.

Of the 36 dogs studied, 13.39% showed clinical improvement or great improvement. Also, 25 % of the dogs showed moderate improvement and 30.56% had slight improvement. No change was observed in 22.22% of the dogs and 8.33% had worsened. From the group of aggressive dogs, 50% improved, 25% worsened, and 25% showed no change. Approximately 80% of the dogs with anxiety states showed some improvement, 20% showed no change, and none of them got worse.

As for the two types of disorders diagnosed, 50% of the aggressive dogs showed moderate or slight improvements, but 25% worsened. We also observed that 80% of the dogs with fear aggression improved, while dogs with other types of aggression worsened. In the group of anxious dogs without aggression, we see improvement in all behavioral categories.

Finally, the Spearman correlation coefficients showed a moderate correlation between compliance and owner satisfaction with improvement in the anxiety signs during the period 1 ($P = 0.03$; $r = 0.36$). The same occurred during periods 2 ($r = 0.76$) and 3 ($r = 0.79$); ($P < 0.0001$).

Research work 2

This study showed significant differences ($P < 0.02$) during treatment period D3 (day 70) for both diagnostic categories, and although periods D1 (day 14) and D2 (day 42) had no significant differences, period D2 has a slightly lower P value, but this is not enough to establish which one of the two treatment periods performed better. On the other hand, as in previous research works there were no significant differences between males and females or between the represented age groups.

As for clinical responses, a large or moderate improvement was obtained in 13 dogs (37.14%) belonging to the two diagnostic categories and in 14 dogs (40%) a slight improvement was achieved. Therefore, at the end of therapy (D3), 77.14% of the dogs showed some signs of improvement in the reported behavior during consultation. However, 8 dogs (22.86%) showed no change, although it is noteworthy that no animal worsened.

Eleven of the 15 anxious dogs with aggression (73.33%) showed improvement. In addition, 80% of the dogs belonging to group of anxiety without aggression improved (16 of 20 dogs treated).

Finally, the Spearman correlation coefficients revealed in this work a positive and significant correlation between compliance and conformity of the owners with treatment and the values obtained of improvement found in each monitoring period (period 1, $r = 0.55$, $P = 0.0007$; period 2, $r = 90.70$, $P < 0.0001$, and period 3, $r = 0.81$, $P < 0.0001$).

Research work 3

Of the dogs studied (135), 39.26% ($n = 53$) showed signs of anxiety accompanied by aggressiveness, while 60.74% ($n = 82$) showed signs of anxiety without aggressiveness. No significant differences ($P > 0.05$) in sex, age or reproductive status were found regarding the treatments used. However there was a tendency for treatments T1 and T2 to improve the anxiety signs in adult animals ($P = 0.12$), male ($P = 0.15$) and whole ($P = 0.14$). However, no significant differences ($P > 0.05$) in the improvement of signs in either diagnostic category according to the treatment used with respect to different treatment periods (periods 1, 2 and 3). However, significant differences ($P = 0.04$) were observed in the differences in period D2 and anxious animals with signs of aggression in period D3 ($P = 0.03$).

In this research the three treatments (T1, T2 and TC) performed well, because in all cases the animals showed some improvement (LI, MI, and SI) and no cases worsened (W). In the group of anxious aggressive animals, treatment T1 represents an improvement of 100% of the studied dogs, and a high percentage of animals (23.82%) had big improvement (LI). However, in the other two treatments (T2 and TC) no cases of great improvement were found.

This data suggests that T1 has a better results in the category of anxious dogs with aggression, while treatment T2 performs better in the category of anxious dogs without aggression, because T1 is the only treatment that presents major improvements (6.45%), and a 58.06% of dogs that showed moderate improvements, and the rate of dogs that had no change is the lowest (19.35%). In the control group (TC) no large improvement in either of the two categories studied were found, and the percentage of animals that did not show any change is quite high (38.88 and 33.33%).

Finally, the Spearman's rank correlation coefficient revealed that at the end of the study (day 70), there was a significant correlation between the owner compliance and the improvevement observed in the group of animals treated with T1 ($r = 0.43$) ($P = 0.001$).

However, the group of animals treated with TC and T2 had no significant correlation ($r = 0.16$) ($P = 0.30$); ($R = 0.16$) ($P = 0.28$) respectively.

GENERAL DISCUSSION

Anxiety is a normal response that the body carries out against threatening situations or stress processes. Usually it is transitory and controllable, and it probably represents the system 'alarm' which allows to prepare the body to carry out a series of physical and emotional responses to danger. However, pathological anxiety-related disorders are diagnosed when the individual experiences a series of physical and mental signs for long periods of time, such signs causing significant discomfort and partnering with a clear organic deterioration (Brandish and Baldwin, 2012).

Because of the lack of current research on the treatment of anxiety disorders in dogs, this thesis was developed in order to know what type of medication behaves better against anxiety disorders in dogs, and which of them can improve better with a behavior modification plan. However, because the dogs have virtually identical social systems to the human relation systems, and knowing that the dog is one of the animal models used in the study of anxiety, its use not only provides an opportunity to understand human anxiety, but also to help improve the relationship between the owner and his pet (Overall, 2000).

It is important not to forget that anxiety usually accompanies most behavior disorders of the domestic dog (Overall, 1997), which shows a clear relationship between the anxious state and presenting aggressive behaviors in different animal species (Avgustinovich *et al.*, 1997; Clement y Chapouthier, 1998; Ferrari *et al.*, 1998; Parmigiani *et al.*, 1999), as various researches show how most of the aggressive animals have high level of anxiety (Ferrari *et al.*, 1998) and generally an anxious animal is aggressive (Kudryavtseva *et al.*, 2002). Because of these claims, in the research work developed for this thesis, we sought to know what type of drug and behavior therapy offers better results in animals that not only have a state of anxiety, but also signs of aggressive behavior, as these have a high impact in the human-animal relationship, public health and animal welfare (Le Brech *et al.*, 2008; Amat *et al.*, 2009; Kruk *et al.*, 2004).

Authors like Simpson *et al* (2007) reported the need for combination therapy, a behavior modification plan combined with drug therapy. Thus, this research aimed to establish an appropriate combination drug therapy, which allows not only the positive response of the animal, but also achieve enough client motivation to carry out the behavior modification treatment plan, which would achieve an improvement of the anxiety signs in dogs that have anxiety disorders.

However, during the hypothesis approach of this work, it was necessary to take into account that most psychotropic agents begin their effect after 4 or 5 weeks of treatment as well as the need of the owner to feel motivated from the start to carry out the behavior modification plan, it was decided to use a combination therapy with of SSRI (fluoxetine) with a benzodiazepine (clorazepate or alprazolam), since the immediate action of the latter, can control the signs of anxiety while the antidepressant, fluoxetine, reached the levels needed to exercise its anxiolytic effect, as reported in studies by Crowell-Davis *et al* (2003).

The results of these studies show how when using combination therapy with alprazolam, and performing the statistical Spearman correlation to know the relationship between improvement in clinical signs and compliance owner with the proposed therapy, the values are significant for the three treatment periods (day 14, 42 and 70). That is, not only the owner was satisfied during the first part of the treatment with alprazolam-fluoxetine therapy, but also concurred until the end of therapy. However, another possible interpretation to be made is that owners who participated in this study had some placebo influence effect, which possibly made them be more consistent throughout the treatment. These results contrast with the results obtained in the work where clorazepate was used, this treatment combination showed a moderate Spearman correlation at the start of treatment (day 14), which may indicate that the owner didn't perceive satisfactory the effects of drug treatment for period 1. However, when the treatment time increased (day 42 and 70) the owners were highly satisfied, showing significant P values ($P = 0.0001$), which can corroborate that, as the treatment progresses, therapy improves clinical signs and the client compliance increases.

It should be noted that in general the combination therapy of pharmacological agents with a behavior modification plan behaved satisfactorily. However, when analyzing the results of research work 2, where it was used alprazolam in the combined therapy, 77.14% dogs of both diagnostic categories showed some improvement, in contrast with data obtained in research 1 (using clorazepate), as the total number of animals that showed improvement was

68.95%. This may suggest that signs of anxiety in dogs improve to a greater or lesser extent using alprazolam in combination therapy. It is important to note that clorazepate has a more sedative effect than alprazolam, what could have interfered with the behavior modification plan realization by the animal, which ultimately could have altered the response to treatment and therefore the percentage of improvement found in animals using alprazolam was greater. However, it is difficult to say that all animals were under sedative effects, because the owners did not provide information, possibly because they found hard to differentiate tranquility and sedative effects.

One of the potential problems that can be found administering benzodiazepines, is worsening and/or disinhibition in aggressive behavior (Müller, 1995; Crowell-Davis and Murray, 2006). In none of the research works existed disinhibition in aggressive behavior, however, in the case of clorazepate, owners did not provide enough data to allow corroboration.

On the other hand, 8.33% dogs treated with clorazepate showed worsening signs, in contrast with the results obtained using alprazolam, where during the 4 weeks of treatment with the drug, there were no reports of the owners about anxious worsening signs. This means that 8.33% of the anxious dogs with aggression category that worsened when using clorazepate and the 22.22% dogs of both diagnostic categories that showed no improvement in their signs, could be due to external factors hard to control, such as external environmental stimuli, altered relationship between owner and animal, and/or misapplication of behavior modification plan.

Finally, as different authors cite, psychotropic drugs have certain disadvantages and side effects (Woods *et al.*, 1992; Simpson and Anderson, 1996; Manthey, 2012) that make the owners refuse to use. For which arises the comparison of conventional drug therapy and trace elements based therap. We studied specifically lithium gluconate, since several studies prove their effectiveness for treating anxiety-related problems both in animals and humans (Dantzer and Momade, 1979; Reisner, 1994; Moore, 1995; Ledoux, 2003; Anke *et al.*, 2005; Viala, 2013).

Our results show that the lithium gluconate at doses of oligotherapy, during the 10 weeks of treatment accompanied with the proposed behavior modification plan, allows anxious-aggressive animals to show improvement in all cases. Lithium treatment shows a significant

percentage of large improvement (LI) in the category of anxious dogs with aggression (23.82%), which did not happen with the other treatments. However, keep into account that because most owners currently have a preference for compounds non-drug-induced, they could have provided biased information.

It is important to do further researches to study differences between treatments and the motivation of the owner. For example, in this research the owners were more satisfied with the administration of lithium trace element throughout the entire treatment (Spearman correlation was highly significant between the improvement of clinical signs, and owner satisfaction and compliance with the therapy ($r = 0.43$; $P = 0.001$). This finding may have an impact on the performance of the combination therapy, because the owner is more consistent, and possibly performs more effectively the proposed therapy, which ultimately will be reflected at the end of the treatment.

The animals belonging to the category of anxious dogs without aggression, when using the trace element lithium, didn't show great improvement (LI), it can be seen that for this category, the treatment where alprazolam was used, showed a greater improvement. When comparing the total improvement reported by the owners of anxious dogs without aggression, the lowest percentage was found in trace element lithium (41.66%). This finding could lead to assert that combination therapy with a benzodiazepine like alprazolam is more effective for anxious dogs that don't present states of aggression. In contrast, there was a 100% improvement of the dog with anxiety aggressive behaviors when the treatment used was trace element lithium.

The owners reported no signs of sedation, tolerance or disinhibition of aggressive behavior, when using lithium gluconate, which corroborates the low possibility of side effects when using this trace element (Berthélémy, 2008), as well to check their non-interference with activity levels and social interaction of dogs, as in studies with mice by Prasad and Sheard (1982).

Finally these studies support the need of implementing a behavior modification plan accompanying the treatment of anxiety states, because the behavior modification plan alone did not show great improvement (LI) for dogs of both diagnostic categories.

According to the results, we can suggest that a combined plan of pharmacological agents and behavioral modification therapy, is effective to treat anxiety disorders in dogs, as it allows the owner to be satisfied with the results and feel more motivated to perform the behavioral therapy, which eventually ends up improving the anxiety state. However, it is important to know the different limitations of pharmacological agents and a behavior modification plan on their own, and therefore, lithium gluconate at doses of oligotherapy is proposed as a new alternative for cases where owners have rejected the use of psychotropic agents, it also improves significantly the signs of anxiety that occur with aggression in dogs.

BIBLIOGRAFÍA

Amat, M., Manteca, X., Mariotti, V., Ruiz de la Torre, J., Fatjó, J., 2009. Aggressive behavior in the English cocker spaniel. *Journal of Veterinary Behavior* 4, 111-117.

Anke, M., Arnold, W., Mullern, R., Schafer, U., 2005. Lithium and Rubidium in the food chain, intake by man, essentiality ad toxicity. Satellite symposium on lithium Athens 13-41.

Askew, H.R., 1996. Fear problems and separation anxiety, in *Treatment of behaviour problems in dogs and cats*. Cambridge, MA, Blackwell Science. pp. 204-227.

Askew, H., 2005. Tratamiento de los problemas de comportamiento en perros y gatos. 2^a ed. Intermedica. Argentina. pp.444.

Avgustinovich, D.F., Gorbach, O.V., Kudryavtseva, N.N., 1997. Comparative analysis of anxiety-like behavior in partition and plus-maze tests after agonistic interactions in mice. *Physiology & Behavior* 61(1), 37-43.

Berthélémy, S., 2008. Les oligoéléments, généralités et macroéléments. *Actualités Pharmaceutiques* 47(472), 24-29.

Brandish, E.K., Baldwin, D.S., 2012. Anxiety disorders. *Psychiatric disorders. Medicine* 40(11), 599-606.

Clement, Y., Chapouthier, G., 1998. Biological basis of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 22(5), 623-633.

Crowell-Davis, S.L., Seibert, L.M., Sung, W., Parthasarathy, V., Curtis, T.M., 2003. Use of clomipramine, alprazolam, and behavior modification for treatment of storm phobia in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 222, 744-748.

Crowell-Davis, S.H., Murray, T., 2006. *Veterinary Psychopharmacology*. Blackwell Publishing, Oxford, UK. pp.51.

Dantzer, R., Momade, P., 1979. Effects of lithium on aggressive behaviour in domestic pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2, 299-303.

Dodman, N., Shuster, L., 2000. *Psychopharmacology of Animal Behavior Disorders*. Blackwell Science, Malden, MA, USA. pp.170.

Ferrari, P.F., Palanza, P., Parmigiani, S., Rodgers, R.J., 1998. Interindividual variability in Swiss male mice: relationship between social factors, aggression and anxiety *Physiology & Behavior* 63(5), 821-827.

Hart, B.L., Cooper, L.L., 1996. Integrating the use of psychotropic drugs with environmental managment and behavioral modification for treatment of problem behavior in animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 209, 1549-1551.

Hart, B.L., Hart, L.A., Bain, M.J., 2009. Tratamiento de la conducta canina y felina. Intermédica (Ed). 2ª edición. Buenos aires. Argentin.pp.309.

Hurlé, M.A., Monti, J., Flórez, J., 2008. Fármacos ansiolíticos y sedantes. En: Jesús Flórez, Juan Antonio Armijo y África Mediavilla. Farmacología Humana. 5ª ed. Elsevier Masson.España.

Ibáñez, M., Ánzola, B., 2009. Use of fluoxetine, diazepam, and behavior modification as therapy for treatment of anxiety-related disorders in dogs. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* 4(6), 223-229.

Kruk, M.R., Halász, J., Meelis, W., Haller, J., 2004. Fast positive feedback between the adrenocortical stress response and a brain mechanism involved in aggressive behavior. *Behavioral Neuroscience* 118, 1062-1070

Kudryavtseva, N.N., Bondar, N.P., Avgustinovich, D.F., 2002. Association between experience of aggression and anxiety in male mice. *Behavioural Brain Research* 133(1), 83-93.

Le Brech, S., Koscinczuk, P., Rossner, M., 2008. Agresividad canina. *Revista veterinaria* 19, 50–53.

Ledoux, J.M., 2003. Features of the comparative pharmacokinetics of lithium, a potential application of its use in livestock farming. *Medical Hypotheses* 61(2), 278-281.

Manthey, L., 2012. Determinants and consequences of long-term benzodiazepine use. Tesis para optar al grado de Doctor. Department of Psychiatry, Faculty of Medicine Leiden University Medical Center (LUMC), Leiden University. Países Bajos.

Mondragón, M., Echevarría, A., Diéz-Aja, C., Madrazo, M., 2010. Agonistas y antagonistas del receptor de benzodiazepinas. En: Salazar, M., Peralta, C., Pasto, F., Tratado de psicofarmacología. Bases y aplicación clínica. 2ª ed. Editorial Médica Panamericana S.A.

Moore, J.A., 1995. An assessment of lithium using the IEHR evaluative process for assessing human developmental and reproductive toxicity of agents. *Reproductive Toxicology* 9(2), 175–210.

Müller, W.E., 1995. Benzodiazepin-Tranquilizer. Experimentelle und klinische Pharmakologie. In: Riederer, P., Laux, G., Po "ldinger W, eds. *Neuropsychopharmaka, Ein Therapie-Handbuch*. vol. 2, Tranquilizer und Hypnotika. Vienna: Springer-Verlag, 23–41.

Overall, K.L., 1997. Fears, anxieties and stereotypes. In: *Clinical Behavioral Medicine for Small Animals*. Mosby-Year Book, St. Louis, Missouri, USA.pp.209–250.

Overall, K., 1997a. Terminology in behavioral medicine. Diagnosis, necessary and sufficient conditions, and mechanism. *European Society of Veterinary Clinical Ethology Proceedings of the First International Conference on Veterinary Behavioural Medicine* 14-19.

Overall, K., 2000. Natural Animal Models of human Psychiatric Conditions: Assessment of Mechanism and Validity. *Psychopharmacol & biol.psychiat* 24, 727-776.

Overall, K.L., 2001. Pharmacological Treatment in Behavioural Medicine: The Importance of Neurochemistry, Molecular Biology and Mechanistic Hypotheses. *The Veterinary Journal* 162(1), 9-23.

Parmigiani, S., Palanza, P., Rodgers, J., Ferrari P.F., 1999. Selection, evolution of behavior and animal models of behavioral neuroscience. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 23(7), 957–970.

Picard, H., 1985. Thermalisme et oligoélément. *Presse thermale et climatique* 122 (1), 48-49.

Prasad, V., Sheard, M.H., 1982. Effect of lithium upon desipramine enhanced shock-elicited fighting in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 17, 377–8.

Reisner, I., 1994. Use of lithium for treatment of canine dominance-related aggression. *Applied Animal Behaviour Science* 39, 183-92.

Salman, M.D., New, J.G., Scarlett, J.M., Kass, P.H., Ruch-Gallie, R., Hetts, S., 1998. Human and animal factors related to the relinquishment of dogs and cats in 12 selected animal shelters in the United States. *J. Appl. Anim. Welfare Sci.* 1, 207–226.

Seksel, K., Lindeman, M.J., 2001. Use of clomipramine in treatment of obsessive-compulsive disorders, separation anxiety and noise phobia in dogs: a preliminary, clinical study. *Australian Veterinary Journal* 79, 252–256.

Simpson, D., Anderson, I., 1996. Rapid tranquillisation: a questionnaire survey of practice. *Psychiatry Bulletin* 20, 149-152.

Simpson, B.S., Landsberg, G.M., Reisner, I.R., Ciribassi, J.J., Horwitz, D., Houpt, K.A., Kroll, T.L., Luescher A., Moffat K.S., Douglass, G., et al., 2007. Effects of Reconcile (fluoxetine) chewable tablets plus behaviour management for canine separation anxiety. *Veterinary Therapeutics* 8, 18–31.

Stahl, S.M., 2009. Ansiolíticos y sedantes hipnóticos. En: *Psicofarmacología esencial. Bases neurocientíficas y aplicaciones clínicas*. 2ª ed. Editorial Ariel, S.A. Barcelona.

Viala, R., 2013. Interet du lithium á doses modérées. *La Phytothérapie Européenne* 11-16.

Woods, J.H., Katz, J.L., Winger, G., 1992. Benzodiazepines: use, abuse, and consequences. *Pharmacological Reviews* 44, 151–347.

Zarse, K., Terao, T., Tian, J., Iwata, N., Ishii, N., Ristow, M., 2011. Low-dose lithium uptake promotes longevity in humans and metazoans. *European Journal of Nutrition* 50, 387–389.

9. ANEXOS
