



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**ANHEDONIA EN PERROS: EFECTO DEL ESTRÉS SOBRE LA  
PREFERENCIA FRENTE A SACAROSA**

**Daniela Paz Alvarez Rojas**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Fomento de la  
Producción Animal

**PROFESOR GUÍA: JAIME FIGUEROA HAMED**  
Universidad de Chile

**FONDO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS VETERINARIAS 2014-2015**

**SANTIAGO, CHILE**  
2015



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**ANHEDONIA EN PERROS: EFECTO DEL ESTRÉS SOBRE LA  
PREFERENCIA FRENTE A SACAROSA**

**Daniela Paz Alvarez Rojas**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Fomento de la  
Producción Animal

Nota Final: .....

Profesor Guía:	Jaime Figueroa Hamed	.....
Profesor Corrector:	Juan I. Egaña Moreno	.....
Profesor Corrector:	Tamara Tadich Gallo	.....

**PROFESOR GUÍA: JAIME FIGUEROA HAMED**  
Universidad de Chile

FONDO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS VETERINARIAS 2014-2015

SANTIAGO, CHILE  
2015

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a todas aquellas personas que hicieron posible de alguna u otra forma la realización de esta tesis y a las que estuvieron en todo el camino anterior para llegar a esta instancia.

A la **Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Chile**, donde he pasado todos estos años creciendo como persona y profesionalmente. Y al **Fondo de Investigación en Ciencias Veterinarias**, gracias al cual fue posible realizar este proyecto.

Al profesor **Juan I. Egaña**, quien nos permitió hacer uso de las dependencias del CINAM y de los perros utilizados para las pruebas de alimentación canina en la facultad.

A mi profe, **Jaime Figueroa**. Estoy absolutamente segura que sin su ayuda jamás hubiera podido terminar esta tesis. De verdad muchas gracias por toda la dedicación que le pone a su trabajo y la preocupación que tiene por sus tesis. Este trabajo constó de mucho ensayo y error y todas las discusiones que tuvimos para saber por qué o por qué no funcionaban las cosas, hicieron mucho más simple entender cada situación y seguir adelante. Muchas gracias por todo el tiempo dedicado a las pruebas, reuniones, presentaciones, correcciones, etc.

A la profesora **Bessie Urquieta**, por su confianza y preocupación por los alumnos y particularmente en mi caso, preguntando siempre como iba con los ramos o con la tesis y ofreciendo su ayuda cuando de algo podía servir.

A mis compañeros tesis: **Daniela, Carem, Carolina, Max e Ivannia**.

A mis amigas de la Universidad, **Camy, Dany, Pili, Sofi y Jose**, que han estado ahí tanto en las buenas como en las malas, estudiando en grupo, acompañándonos cuando “sobraba” el tiempo y por supuesto, en momentos de distensión. Muchas gracias nenas, las quiero un montón. Y en especial a mis **PPG**, con quienes he pasado de todo desde las primeras semanas de nuestro ingreso a la facultad.

A mi familia, **mis padres, Francisca, Camila, Benjamín, Amanda, Loreto y Adriana**, que siempre me han apoyado y me han hecho tener confianza en mí y de lo que soy capaz.

A **Felipe**, por apoyarme y seguirme, en las locuras que se me ocurren desde que nos conocimos. Gracias por ayudarme en todas las instancias que he pasado.

## **RESUMEN**

La anhedonia se describe como la disminución de la capacidad para sentir placer frente a diversas actividades, y se ha observado en humanos con ciertas patologías mentales. En otros mamíferos, como ratas y cerdos la anhedonia generada por estrés puede modificar el consumo de fuentes palatables como la sacarosa, cambiando sus preferencias. En el siguiente trabajo se estudió el efecto del estrés sobre la preferencia por sacarosa en perros. Se utilizaron 16 perros de 3–11 años, alojados en caniles, realizando pruebas de preferencia entre soluciones de sacarosa (10 g/L y 30 g/L) y agua durante 20 minutos, comparando las medias de consumo tras someter a la mitad de los animales a tres protocolos de bienestar: alimentación, paseo y enriquecimiento ambiental. Las pruebas previas a los protocolos experimentales arrojaron diferencias significativas en la preferencia según grupo etario, encontrándose mayor consumo de sacarosa 30 g/L y 40 g/L, con respecto a agua en perros adultos ( $\leq 6$  años) (203,69 vs. 30,188 g.  $P=0,004$  y 358,93 vs. 56,714 g.  $P=0,002$ ), pero no en viejos ( $>6$  años) (102,25 vs. 88,75 g.  $P=0,745$  y 81,125 vs. 122,81 g.  $P=0,5$ ), lo que podría deberse a la disminución en la percepción de los aromas en animales viejos. Sin embargo, no se observó efecto del estrés sobre las preferencias por sacarosa en ningún protocolo experimental, lo cual se condice con la alta variabilidad de resultados entre laboratorios. No obstante, esta conducta podría haberse observado con una menor variabilidad de factores intrínsecos y extrínsecos de los animales durante los ensayos, por lo que se recomiendan nuevos estudios complementarios para investigar la anhedonia en perros domésticos.

**Palabras claves:** Anhedonia; perros; sacarosa; estrés.

## **ABSTRACT**

Anhedonia is described as the decrease of the capacity to feel pleasure when facing various activities, and it has been observed in humans under certain mental pathologies. In other mammals, such as rats and pigs, stress generated anhedonia may modify consumption of palatable sources such as sucrose, changing their preferences or acceptance. In this experiment we study the effect of stress on sucrose preference in dogs. Sixteen dogs (3–11 years-old), housed in individual kennels were used to tests of preferences between sucrose solutions (10 g/L and 30 g/L) and water for 20 minutes comparing the means of consumption. Half of the animals were exposed to three welfare protocols: feeding frequency, dog's walks and environmental enrichment. On pre-protocols tests, significant differences were observed in sucrose preferences according to age, finding more 30 g/L and 40 g/L sucrose consumption regarding water in adult dogs ( $\leq 6$  years) (203,69 vs. 30,188 g.  $P=0,004$  and 358,93 vs. 56,714 g.  $P=0,002$ ) respectively, with no differences in old dogs ( $\geq 6$  years) probably explained by a decrease in the scent perception of old animals. However, the effect of stress over sucrose preferences was not observed in any experimental protocol, which agrees with the high variability of anhedonia results among laboratories. Nonetheless, anhedonia behaviors related to sucrose consumption could have been observed with a lower variability of intrinsic and extrinsic animal's factors during trials, so new complementary studies to investigate anhedonia in domestic dogs are recommended.

**Keywords:** Anhedonia; dogs; sucrose; stress.

## INTRODUCCIÓN

La percepción del entorno a través de los sentidos permite la búsqueda, de manera innata o aprendida, de aquellos elementos en el ambiente que otorguen recompensas. Las conductas de importancia biológica están reforzadas por estímulos placenteros lo que permite que los animales repitan aquellas conductas en el futuro asegurando entre otras actividades la alimentación (Balcombe, 2009; Huston *et al.*, 2013). En la mayoría de los mamíferos la preferencia por sabores dulces se presenta de manera innata, debido a las cualidades hedónicas y post-ingestivas que posee. Pero el hedonismo experimentado durante el consumo de un alimento o solución determinada, no se ve afectado solamente por las características del producto consumido (por ejemplo, el sabor dulce), sino también por el estado fisiológico (hambre, saciedad, enfermedad, temperatura interna, etc.) y el estado psicológico (estrés, depresión, ansiedad, etc.) del individuo, interactuando todos los factores para producir la sensación final de placer. Se espera que una solución dulce estimule el consumo y provoque placer en la mayoría de mamíferos, pero en situaciones de ingesta reciente de alimento, la misma solución dulce puede no resultar placentera disminuyendo o inhibiendo el consumo (Beaver, 2009; Cabanac, 1971). En el caso del estado psicológico, se ha descrito en humanos que algunas patologías como la esquizofrenia y la depresión, disminuyen la capacidad para experimentar placer frente a ciertos estímulos, proceso conocido como anhedonia (Ho y Sommers, 2013; Matthews *et al.*, 1995), este efecto también se ha observado en otros mamíferos sometidos a estrés, observándose una disminución en la preferencia y/o aceptabilidad de sustancias palatables (Figuroa *et al.*, 2012, Ho y Sommers, 2013; Matthews *et al.*, 1995). Este cambio no radica en la sustancia ingerida, sino en la capacidad del animal para reconocer su recompensa. Diversos experimentos en ratas y primates se han desarrollado para su extrapolación con la medicina humana (Ho y Sommers, 2013; Matthews *et al.*, 1995). En los trabajos realizados en ratas, se ha medido la preferencia y aceptabilidad por soluciones de sacarosa de los individuos antes y después de ser expuestos a situaciones estresantes, generalmente utilizando el protocolo de *Chronic Mild Stress* (CMS), donde se expone a las ratas a estrés leve, continuo y rotativo (como por ejemplo: una jaula sucia, nuevos olores, luz continua, objetos extraños en la jaula) durante cinco a seis semanas, demostrando en general, una disminución en el consumo luego del estrés (Koob y Zimmer, 2012; Matthews *et al.*, 1995),

a pesar de ser un modelo experimental recurrente en la literatura, existen resultados contradictorios entre laboratorios (Grønli *et al.*, 2005; Harris *et al.*, 1997; Matthews *et al.*, 1995; Willner, 1997). En un estudio reciente en cerdos de recría (28-42 días) se observaron comportamientos de anhedonia frente a soluciones de sacarosa, debido al estrés generado por la mezcla de animales con jerarquías ya establecidas al comienzo del destete, observándose una disminución de la preferencia por esta solución con respecto a agua en el grupo de animales sometidos a estrés (Figueroa *et al.*, 2012).

Las causas de estrés son variables y dependientes de cada especie e individuo, en el caso de los perros en condiciones de cautiverio, existen algunas situaciones que provocarían bajos niveles de bienestar, como la limitación espacial y social, la falta o insuficiente cantidad de ejercicio, ausencia de desafíos ambientales y la restricción alimentaria, entre otras. Estas circunstancias son comunes en diferentes caniles o situaciones de cautiverio (Beerda *et al.*, 1997; Pullena *et al.*, 2010; Rooney *et al.*, 2007; Rooney *et al.*, 2009). El estrés en los perros puede detectarse por cambios fisiológicos y conductuales (Beerda *et al.*, 1997; Hennessy, 2013; Huston *et al.*, 2013; Rooney *et al.*, 2007). Fisiológicamente, existe una activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) que termina en un aumento de la concentración de la hormona adrenocoticotropa y cortisol en circulación, aumentando la frecuencia cardíaca y presión sanguínea (Huston *et al.*, 2013). Cuando el estímulo estresante se mantiene de forma crónica produce consecuencias negativas que llevan a no responder correctamente ante nuevos estímulos estresantes (Hennessy, 2013; Rooney *et al.*, 2007). Los cambios conductuales observados frente a estrés varían si es de tipo agudo o crónico, siendo principalmente cambios posturales, cambios en la vocalización y la presencia de conductas anormales (Beerda *et al.*, 1997; Rooney *et al.*, 2007).

La evaluación de las características organolépticas de un alimento comercial para perros, se realiza a través de pruebas de preferencia entre alimentos con ingredientes o aromas nuevos que requieren ser contrastados. Al mantener a los perros bajo cautiverio para utilizarlos en la evaluación de estos alimentos, aumentan los factores que producirían estrés, lo que podría generar conductas de anhedonia, pudiendo alterar las preferencias por alimentos palatables. El objetivo de este estudio, fue evaluar si perros de caniles experimentales cambian sus preferencias por soluciones hedónicas (sacarosa), debido a cuadros de estrés

relacionados con la frecuencia de alimentación, frecuencia de paseo y presencia de enriquecimiento ambiental. Los resultados permitirían entender el efecto que ejerce el estrés en perros sobre el consumo de ingredientes palatables a través de la anhedonia, como a su vez poder evaluar diversas situaciones estresantes para estos animales, a través de una metodología simple de preferencia alimentaria.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Los animales utilizados en los ensayos pertenecen al Centro de Investigación de Nutrición y Alimentación de Mascotas (CINAM) del Departamento de Fomento de la Producción Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (FAVET). El estudio fue previamente aprobado por la Comisión de Bioética de la Facultad de Ciencias Veterinaria y Pecuarias de la Universidad de Chile; N°042013. Los perros utilizados en este estudio siguieron participando activamente de las pruebas de preferencias realizadas en el CINAM durante el periodo no experimental.

### **1. Animales y alojamiento.**

Un total de 16 perros adultos ( $6 \pm 3,2$  años) de raza Beagle ( $n=14$ ) y Labrador ( $n=2$ ), se utilizaron para evaluar el efecto del estrés en la preferencia (*test* de dos bebederos) y palatabilidad (primer acercamiento) frente a soluciones de sacarosa (azúcar granulada LIDER® disuelta en agua potable). Los individuos fueron alojados en caniles individuales, los cuales presentaban un ambiente interno (1,65 x 1,85 metros) con cama y bebedero, donde se realizan las pruebas de conducta alimentaria y se alimenta a los canes, y un patio (1,65 x 2,45 metros). Los animales fueron alimentados diariamente (9:30 am) con alimento extruido comercial, en una ración única del 3% de su masa corporal.



## **2. Procedimientos.**

### **2.1 Determinación de la condición basal de los perros en los caniles.**

Previo a las pruebas experimentales de estrés, se evaluó la condición basal de los animales, a través de la observación del historial clínico, un examen clínico físico realizado por los médicos residentes de la clínica de FAVET (observación de mucosas, inspección de la cavidad bucal y medición del tiempo de llene capilar, realización del pliegue cutáneo, palpación de abdomen, auscultación de tórax y medición de frecuencia respiratoria y cardíaca, toma de temperatura rectal, pesaje de los individuos y exámenes físicos específicos en los casos que sea necesario) y análisis de sangre extrayendo 6 mL. de sangre desde la vena cefálica (o la vena safena, como segunda opción), colocando 3 mL. en un tubo sin aditivos para hemograma y 3 mL. en uno con EDTA para medir cortisol plasmático. Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Química Clínica Especializada Ltda.

### **2.2 Estudio de la preferencia y aceptabilidad por soluciones de sacarosa previo a los protocolos de estrés.**

Los animales fueron aclimatados durante dos días a las condiciones experimentales, ofreciéndoles dos bebederos equidistantes con una solución de sacarosa 1% durante la tarde (14:30; 20 min/día). Posteriormente (día 3), se realizaron pruebas dosis-respuesta para elegir dos concentraciones de sacarosa a utilizar en las siguientes etapas, según la concentración mínima preferible por los perros, con respecto a agua de beber y una concentración menor, realizando pruebas de preferencia y aceptabilidad entre sacarosa al 1, 2, 3 y 4% vs. agua potable durante veinte minutos. La cantidad de solución consumida durante la prueba de preferencia (sacarosa vs. agua) y durante la prueba de aceptabilidad (sacarosa y agua), se obtuvo calculando la diferencia entre el peso del bebedero al inicio y al final de la prueba. Además, durante la prueba de preferencia se observó el primer acercamiento (primera solución consumida observada durante los primeros diez segundos) para tener una aproximación de la palatabilidad de las soluciones. Las pruebas de

preferencia y aceptabilidad fueron contrabalanceadas entre animales y entre días. En este sentido, en la mitad de los perros (n=8) se evaluó primero la preferencia y posteriormente la aceptabilidad, y en la otra mitad se evaluó primero la aceptabilidad y luego la preferencia. También se contrabalanceó la posición de la solución con sacarosa entre perros y días, durante las pruebas de preferencia. En las pruebas de aceptabilidad, se contrabalanceó la solución utilizada (sacarosa o agua) (Tabla N° 1).

**Tabla N° 1:** Distribución de las pruebas de preferencia y aceptabilidad frente a sacarosa, contrabalanceando la prueba realizada (preferencia o aceptabilidad), la posición de la solución de sacarosa en preferencia (derecha/izquierda) y la solución utilizada en aceptabilidad (sacarosa o agua) entre perros (1-16) y días (1-4).

Perro\Día	1	2	3	4
1; 3; 9; 11	Agua/Sacarosa	Sacarosa/agua	Sacarosa	Agua
5; 7; 13; 15	Sacarosa	Agua	Agua/Sacarosa	Sacarosa/agua
2; 4; 10; 12	Sacarosa/agua	Agua/Sacarosa	Agua	Sacarosa
6; 8; 14; 16	Agua	Sacarosa	Sacarosa/agua	Agua/Sacarosa

### 2.3 Estudio de la preferencia por soluciones de sacarosa en situaciones de mayor bienestar

Una vez establecidas las inclusiones de sacarosa a utilizar, los animales se clasificaron según su estado de salud (enfermo/sano), sexo (macho/hembra), edad (adulto/viejo), raza (Beagle/Labrador) y condición corporal (ideal/alta) (WSAVA, 2011), conformando dos grupos experimentales homogéneos.

Los grupos fueron alternados como grupo bienestar (n=8) y grupo estrés (n=8), realizando tres ensayos para determinar el efecto del estrés sobre la conducta alimentaria frente a soluciones de sacarosa en perros, con una duración de ocho días en cada ensayo durante los cuales los individuos del grupo bienestar fueron sometidos a situaciones que mejorarían su bienestar, mientras los ocho restantes fueron usados como grupo control, manteniendo su condición basal (grupo estrés). Se estudió el efecto de la periodicidad en la alimentación, pasando de una única ración de alimento a dos raciones en el grupo bienestar, manteniendo

la cantidad total de alimento por día, la alimentación se realizó a las 9:30hrs. en todos los individuos y a las 17:00hrs. en el caso de la segunda ración para el grupo bienestar. Para estudiar el efecto de la periodicidad de paseos, los animales del grupo bienestar fueron paseados todos los días a las 13:00hrs. durante 20 minutos, mientras que los individuos del grupo estrés no fueron paseados. El enriquecimiento ambiental se realizó introduciendo pares de juguetes en los caniles del grupo bienestar, rotándolos cada tres días, los juguetes utilizados fueron dos para morder (*Kong Wubba*® y cuerda anudada *Dogit*®) y uno para alimentar (*Kong Classic*®). Durante los últimos cuatro días de cada protocolo se evaluó la preferencia de los animales por agua potable frente a soluciones de sacarosa (10 g/L y 30 g/L) durante veinte minutos, utilizando el protocolo experimental de preferencia y primer consumo descrito anteriormente.

### **3. Análisis estadístico**

Los datos recogidos durante las pruebas de preferencia y aceptabilidad se analizaron a través del paquete estadístico SAS®. Se analizaron las medias de consumo en veinte minutos a través de un ANOVA utilizando el procedimiento PROC-MIXED del programa estadístico tomando en consideración la solución consumida (sacarosa X% o agua), edad (adulto  $\leq 6$  años; viejo  $> 6$  años), grupo experimental (Experimento A, paseo diario o no paseo; Experimento B, una o dos raciones/día; Experimento C, con o sin enriquecimiento ambiental) y las interacciones entre las variables. Las interacciones no significativas fueron retiradas del modelo. En el caso de las pruebas de preferencia, la unidad experimental (perro) fue analizada como medida repetida. Las medias son presentadas a través de LSMMeans ajustándolo por Tukey y considerando un nivel de significación del 5%, los valores entre 5 y 10% fueron considerados como tendencia. El primer consumo se estimó según el número de perros que consumieron primero de la solución dulce o el agua, los resultados fueron presentados a través de porcentajes.

## **RESULTADOS**

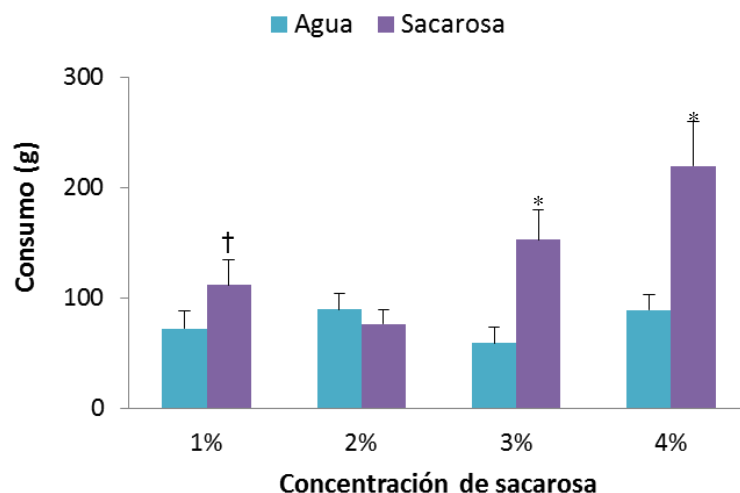
### **1. Determinación de la condición basal de los perros en el canil**

De los 16 individuos, cuatro se encontraron diagnosticados con las siguientes patologías: hiperplasia prostática; hipotiroidismo (con tratamiento); enfermedad periodontal; queratoconjuntivitis seca (con tratamiento). Los 12 individuos restantes se encontraron sanos al examen clínico general, aunque no se pudieron utilizar métodos diagnósticos adicionales. El nivel de cortisol se encontró dentro de los rangos normales para la especie en todos los individuos (1,00 – 6,81 µg/dL).

Se ordenaron los datos de los individuos y los resultados del examen clínico realizado, para clasificar a los animales según su estado de salud (enfermo; n=4 y sano; n=12), sexo (macho; n=11 y hembra; n=5), edad (adulto ≤6 años; n=9 y viejo >6 años; n=7), raza (Beagle; n=14 y Labrador; n=2) y condición corporal (ideal 4-5/9; n= 8 y alta 6-9/9; n=8) (WSAVA, 2011).

### **2. Preferencia y aceptabilidad por soluciones de sacarosa previa a los protocolos de bienestar.**

Se observó una tendencia de los animales a preferir sacarosa al 1% frente al agua potable (112 vs. 73 g; P=0,077. EE=21 g.). Sin embargo, no hubo diferencias en el consumo de sacarosa 2% en comparación con agua (77 vs. 90 g; P=0,538. EE=21 g.). En las pruebas con sacarosa 3% (153 vs. 59 g. P=0,006. EE=29 g.) y 4% (220 vs. 90 g. P=0,011. EE=44 g.) se obtuvieron claras preferencias por ambas soluciones de sacarosa sobre agua (Figura N° 1).



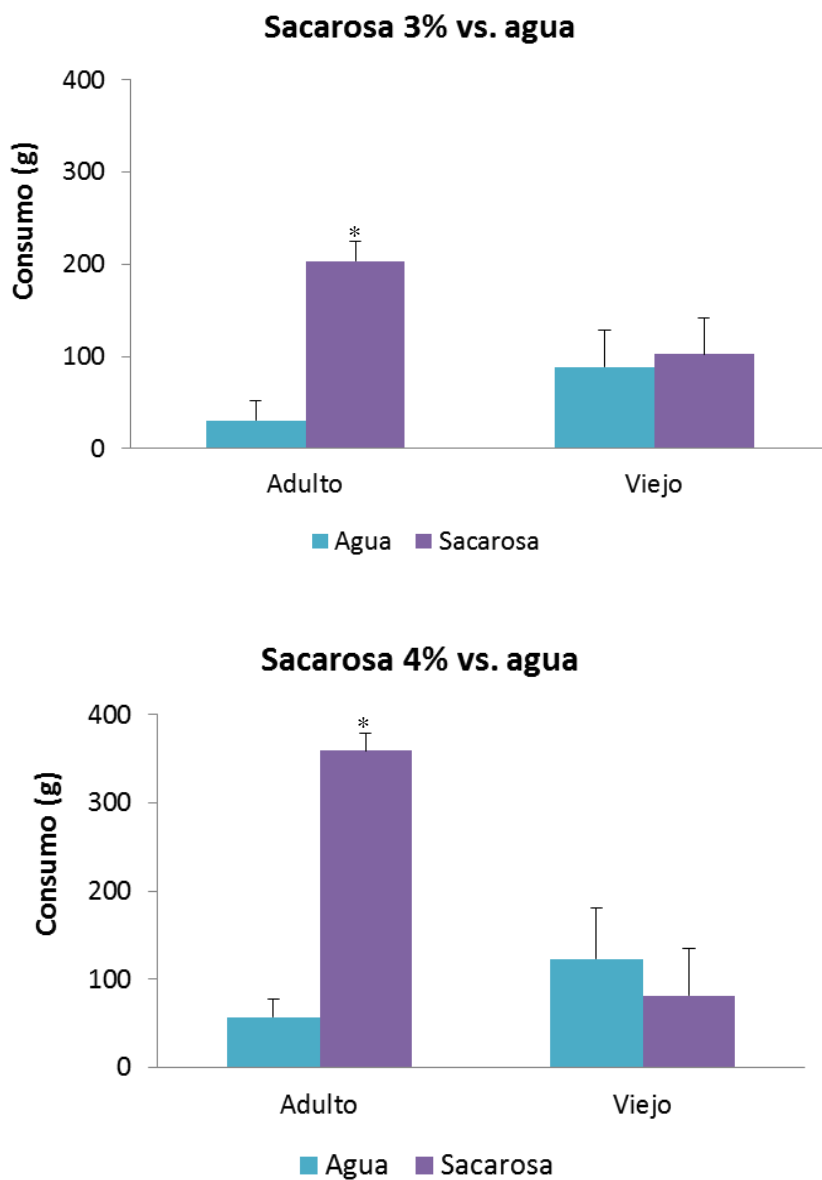
**Figura N° 1:** Preferencia entre agua y soluciones de sacarosa a diferentes inclusiones (1%, 2%, 3% y 4%) en perros domésticos alojados en caniles (\* $P < 0,05$ ; † $P < 0,1$ ).

En el caso de las preferencias según grupo etario existió una tendencia a preferir la solución de sacarosa 1% por parte de los animales del grupo adulto (140 vs. 59 g.  $P = 0,062$ .  $EE = 29$  g.), no existiendo diferencias en el consumo en los animales del grupo viejo (84 vs. 87 g.  $P = 0,928$ .  $EE = 29$  g.). Para el caso de sacarosa 2% no se encontraron preferencias por ninguna solución independiente del grupo etario (grupo adulto: 70 vs. 90 g.  $P = 0,925$ .  $EE = 29$  g.; grupo viejo: 84 vs. 93 g.  $P = 0,788$ .  $EE = 29$  g.) para sacarosa y agua respectivamente. Se observó preferencia por la solución de sacarosa 3% y 4% en el grupo adulto (204 vs. 30 g.  $P = 0,004$ .  $EE = 41$  g./359 vs. 57 g.  $P = 0,002$ .  $EE = 64$  g, respectivamente), mientras que en el grupo viejo no hubo diferencia en el consumo (sacarosa 3%: 102 vs. 89 g.  $P = 0,745$ .  $EE = 41$  g./sacarosa 4% 81 vs. 123 g.  $P = 0,5$ .  $EE = 60$  g.) (Figura N° 2).

La primera solución elegida por los animales no pudo ser observada en todos los casos, debido a que algunos de los animales no consumieron de una solución dentro del tiempo destinado para esta observación. Los resultados del primer consumo con sacarosa en diferentes diluciones (1, 2, 3 y 4%) se encuentra en la tabla N°2.

Al analizar los primeros consumos según grupos etarios, observamos que la mayoría de los perros adultos consumió primero sacarosa 3 y 4%, en comparación con agua. (Tabla N°3).

Con respecto a la aceptabilidad de los animales según las concentraciones de sacarosa utilizadas no se observaron diferencias en el consumo en ninguna de las concentraciones utilizadas.



**Figura N° 2:** Preferencia entre agua y soluciones de sacarosa 3% y 4% durante 20 minutos en perros domésticos alojados en caniles según grupo etario: adulto  $\leq 6$  años y viejo  $> 6$  años (\* $P < 0,05$ ).

**Tabla N°2:** Primer consumo observado entre soluciones de agua y sacarosa a diferentes inclusiones (1%, 2%, 3% y 4%), en perros domésticos alojados en caniles (NO= No observado).

	1%	2%	3%	4%
Sacarosa	47%	44%	69%	56%
Agua	41%	44%	28%	34%
NO	12%	12%	3%	10%

**Tabla N°3:** Primer consumo observado entre soluciones de agua y sacarosa 1% y 3%, en perros domésticos alojados en caniles según grupo etario: adulto  $\leq 6$  años y viejo  $>6$  años (NO= No observado).

	Adulto		Viejo	
	3%	4%	3%	4%
Sacarosa	78%	78%	50%	25%
Agua	17%	22%	38%	44%
NO	5%	0%	12%	31%

### 3. Estudio de la preferencia por soluciones de sacarosa en situaciones de mayor bienestar.

Según los resultados anteriores se utilizó sacarosa 3% como concentración mínima preferible y 1% para observar el efecto de los protocolos de bienestar en las preferencias por sacarosa en perros.

#### 3.1 Frecuencia de alimentación:

En los perros se observó una tendencia a preferir la solución dulce al 1% con respecto al agua (111 vs. 48 g.  $P=0,086$ .  $EE=34$  g.); en el caso de la preferencia entre sacarosa 3% y agua, existió una clara preferencia por la solución dulce (167 vs. 27 g.  $P= 0,032$ .  $EE=59$  g.).

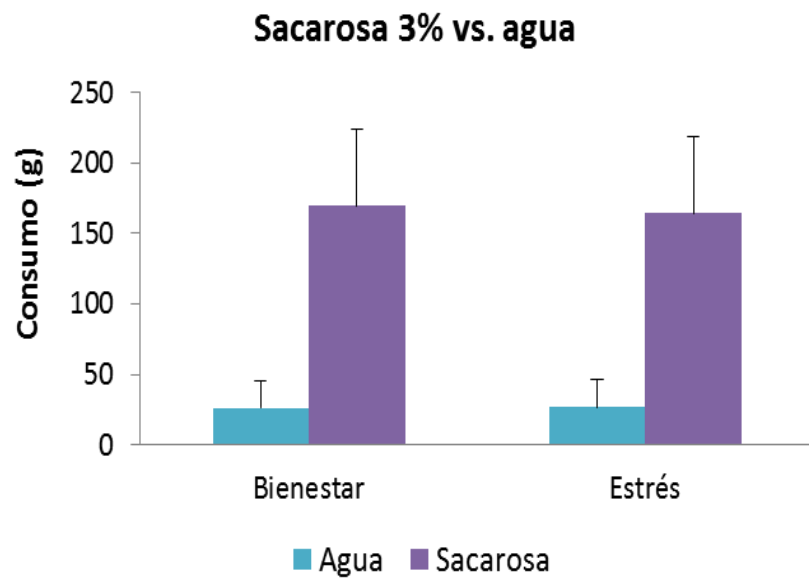
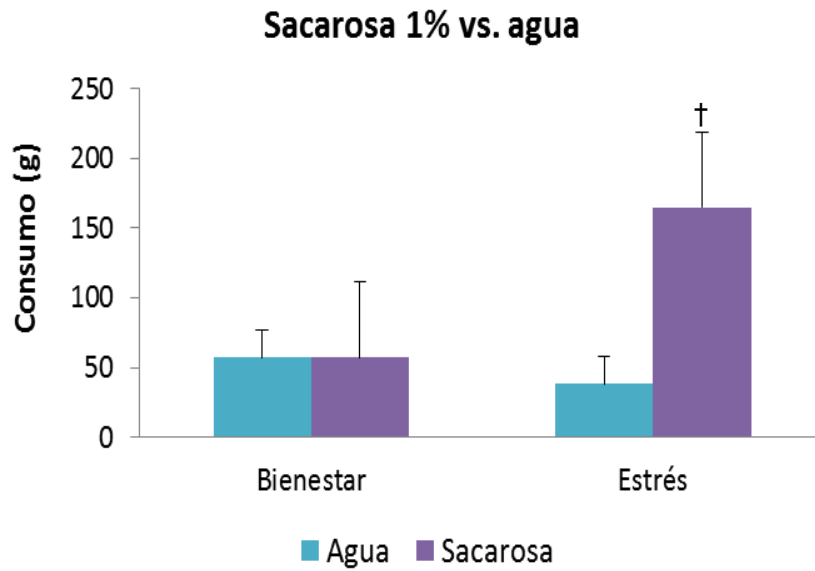
El efecto del estrés en el protocolo de alimentación sobre las preferencias por sacarosa al 1% o 3% con respecto a agua, se observan en la Figura N° 3. En la prueba con sacarosa 1%, existió una tendencia por preferir la solución dulce en el grupo estrés (167 vs. 38 g.  $P=0,085$ .  $EE=48$  g.), mientras que en el grupo bienestar no existieron diferencias en el

consumo (57 vs. 58 g.  $P=1$ .  $EE=48$  g.). En la prueba de preferencia entre sacarosa 3% vs. agua, no se observaron preferencias en ningún grupo experimental (grupo estrés: 164 vs. 27 g.  $P=0,382$ .  $EE=83$  g./ grupo bienestar: 170 vs. 27 g.  $P=0,350$ .  $EE=83$  g.).

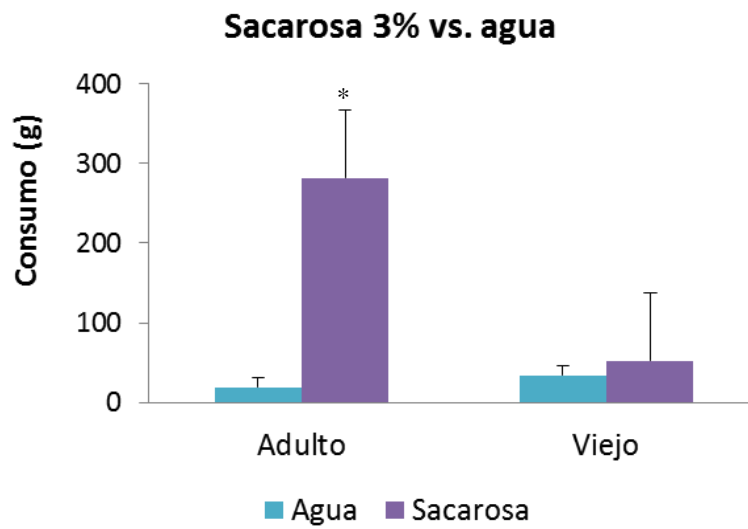
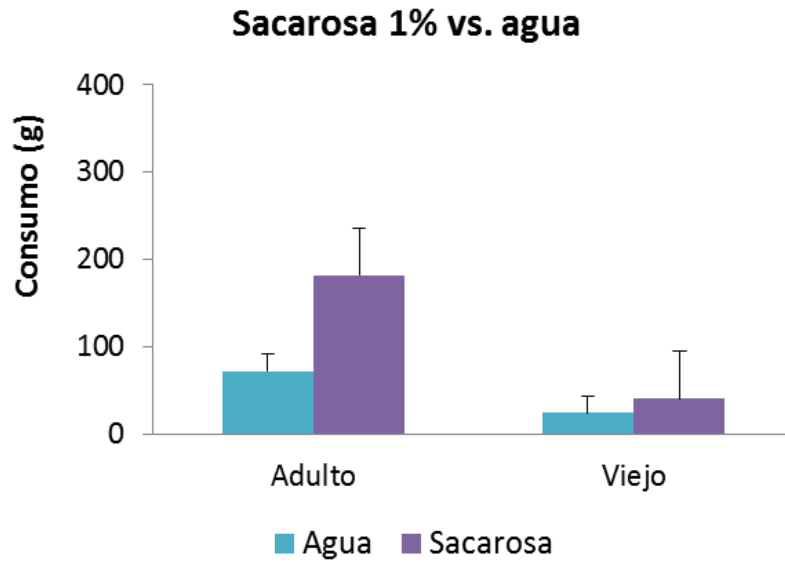
Con respecto al efecto de la edad de los animales, en la prueba de sacarosa 1% vs. agua, no se observó efecto sobre las preferencias (grupo adulto: 182 vs. 72 g.  $P=0,151$ .  $EE=48$  g./ grupo viejo: 41 vs. 24 g.  $P=0,986$ .  $EE=48$  g.) para sacarosa y agua, respectivamente. Sin embargo, cuando se realizó la prueba con sacarosa 3%, existió preferencia por la solución dulce en animales adultos (282 vs. 199 g.  $P=0,034$ .  $EE=83$  g.), mientras que en el grupo viejo no se observaron diferencias en el consumo (53 vs. 34 g.  $P=0,996$ .  $EE=83$  g.) (Figura N° 4).

El porcentaje de primer consumo para sacarosa 1 y 3% comparada con agua se encuentra en la tabla N°4. Según grupo experimental, el grupo estrés un 59% consumió sacarosa 1% primero y 19% agua.





**Figura N° 3:** Preferencia entre agua y sacarosa 1% y 3% en perros domésticos alojados en caniles bajo el protocolo de bienestar de alimentación, según grupo experimental: bienestar (dos raciones/día) y estrés (una ración/día) († $P < 0,1$ ).



**Figura N° 4:** Preferencia entre agua y sacarosa 1% y 3% en perros domésticos alojados en caniles bajo el protocolo de bienestar de alimentación, según grupo etario: adulto ( $\leq 6$  años) y viejo ( $> 6$  años) (\* $P < 0,05$ ).

**Tabla N°4:** Primer consumo observado entre soluciones de agua y sacarosa 1% y 3%, en perros domésticos alojados en caniles bajo el protocolo de bienestar de alimentación (NO= No observado).

	1%	3%
Sacarosa	38%	40%
Agua	25%	23%
NO	37%	37%

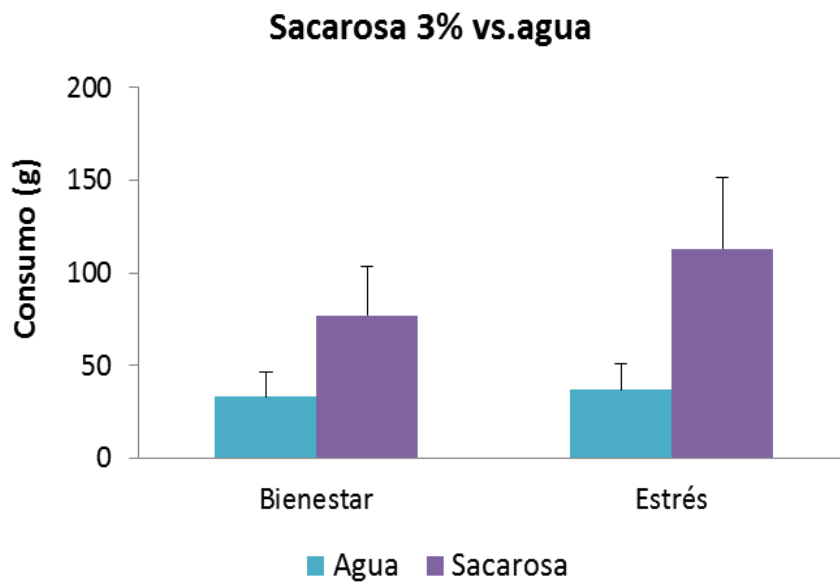
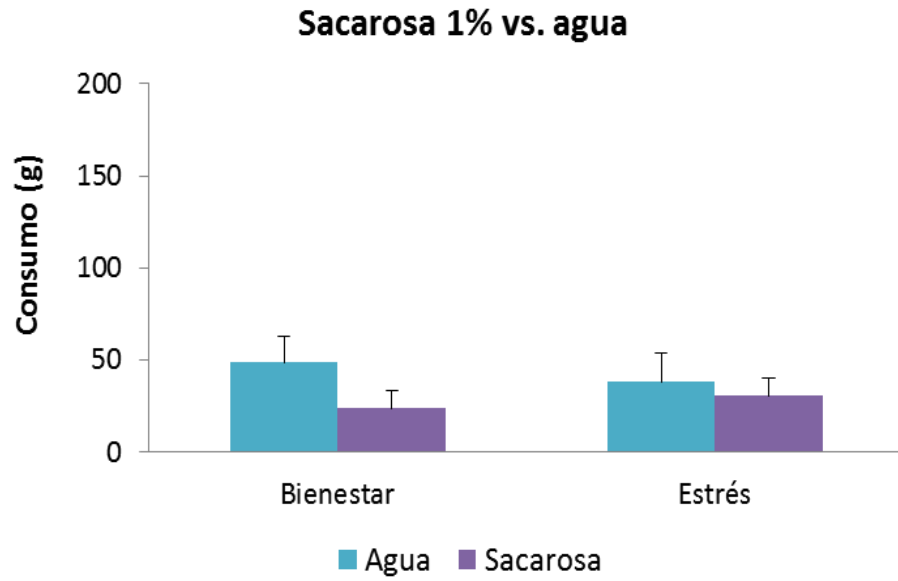
### 3.2 Frecuencia de paseo:

Los animales no mostraron preferencia por ninguna solución en la prueba de sacarosa 1% versus agua (27 vs. 44 g.  $P=0,209$ .  $EE=12$  g.), mientras que con sacarosa 3% se observó preferencia por la solución dulce (92 vs. 35 g.  $P= 0,019$ .  $EE=21$  g.).

Según el grupo experimental, no se observaron diferencias en la preferencia por sacarosa 1% (grupo estrés: 31 vs. 38 g.  $P=0,972$ .  $EE=18$  g./ grupo bienestar: 24 vs. 49 g.  $P=0,474$ .  $EE=17$  g.). Lo mismo se observó en el caso de sacarosa 3% (grupo estrés: 112 vs. 37 g.  $P=0,128$ .  $EE=31$  g./ grupo bienestar: 73 vs. 33 g.  $P=0,540$ .  $EE=29$  g.) (Figura N° 5).

En el caso de la edad de los individuos, no se observaron diferencias en la preferencia por 1% de sacarosa (grupo adulto: 21 vs. 20 g.  $P=0,999$ .  $EE=17$  g./ grupo viejo: 33 vs. 67 g.  $P=0,282$ .  $EE=18$  g.), ni frente a 3% de sacarosa (grupo adulto: 86 vs. 36 g.  $P=0,357$ .  $EE=29$  g./ grupo viejo: 99 vs. 34 g.  $P=0,212$ .  $EE=31$  g.).

Los resultados de las pruebas de primer consumo se encuentran en la tabla N°5.



**Figura N° 5:** Preferencia entre agua y sacarosa 1% y 3% en perros domésticos alojados en caniles bajo el protocolo de bienestar de paseo, según grupo experimental: bienestar (paseo diario) y estrés (sin paseo).

**Tabla N°5:** Primer consumo observado entre soluciones de agua y sacarosa 1% y 3%, en perros domésticos alojados en caniles bajo el protocolo de bienestar de paseo (NO= No observado).

	1%	3%
Sacarosa	30%	48%
Agua	33%	23%
NO	37%	29%

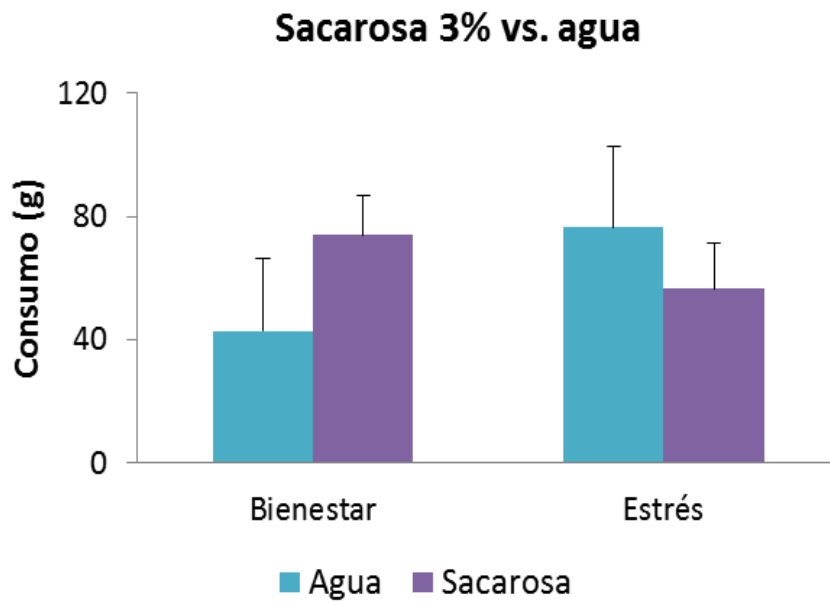
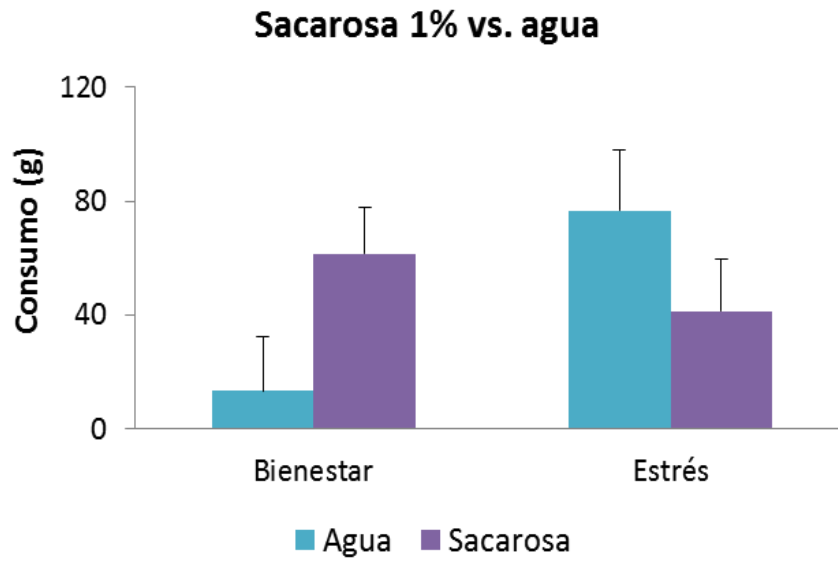
### 3.3 Enriquecimiento ambiental:

Los perros no mostraron preferencia por ninguna solución al comparar 1% de sacarosa con agua (59 vs. 53 g.  $P=0,722$ .  $EE=19$  g.), o 3% de sacarosa con agua (65 vs. 60 g.  $P=0,805$ .  $EE=22$  g.).

No se observaron diferencias en el consumo de sacarosa 1% y agua en ningún grupo experimental (grupo estrés: 75 vs. 75 g.  $P=1$ .  $EE=28$  g./ grupo bienestar: 44 vs. 30 g.  $P=0,945$ .  $EE=25$  g.), tampoco en el consumo de sacarosa 3% y agua (grupo estrés: 57 vs. 76 g.  $P=0,929$ .  $EE=33$  g./ grupo bienestar: 74 vs. 43 g.  $P=0,724$ .  $EE=29$  g.) (Figura N° 6).

Al comparar según grupo etario, tampoco se observaron preferencias por ninguna solución al usar sacarosa 1% con agua (grupo adulto: 62 vs. 26 g.  $P=0,427$ .  $EE=23$  g./ grupo viejo: 57 vs. 80 g.  $P=0,853$ .  $EE=29$  g.), ni sacarosa 3% con agua (grupo adulto: 58 vs. 62 g.  $P=0,998$ .  $EE=28$  g./ grupo viejo: 73 vs. 57 g.  $P=0,969$ .  $EE=35$  g.).

El primer consumo observado por estas soluciones se encuentra en la tabla N°6.



**Figura N° 6:** Preferencia entre agua y sacarosa 1% y 3% en perros domésticos alojados en caniles bajo el protocolo de bienestar enriquecimiento ambiental, según grupo experimental: bienestar (con juguetes en el canil) y estrés (sin juguetes en el canil).

**Tabla N°6:** Primer consumo observado entre soluciones de agua y sacarosa 1% y 3%, en perros domésticos alojados en caniles bajo el protocolo de bienestar enriquecimiento ambiental (NO= No observado).

	1%	3%
Sacarosa	47%	37%
Agua	23%	43%
NO	30%	20%

## DISCUSIÓN

La medición de la anhedonia a través de las preferencias o apetencias por carbohidratos dulces como la sacarosa, es discutible y existen resultados contradictorios entre laboratorios, principalmente por la privación de alimento o agua que se realiza en ellos (Grønli *et al.*, 2005; Harris *et al.*, 1997; Matthews *et al.*, 1995; Willner, 1997). Los resultados obtenidos sobre el efecto del estrés en las preferencias y primer consumo de soluciones de sacarosa, se alejan de la literatura descrita para casos de anhedonia en otras especies (Figuroa *et al.*, 2012; Grønli *et al.*, 2005; Ho y Sommers, 2013; Koob y Zimmer, 2012; Matthews *et al.*, 1995) donde los animales, por lo general, disminuyen su consumo en pruebas de preferencia luego de ser estresados.

Durante las pruebas de dosis-respuesta en la primera parte del estudio, se observó que no hubo variaciones en cuanto a la aceptabilidad de las diferentes concentraciones utilizadas (1, 2, 3 y 4%) a diferencia de las preferencias. Esta disociación entre preferencias y aceptabilidad reafirma que no se pueden utilizar estas pruebas de manera indiferente en la evaluación de la conducta alimentaria y consumo de dietas con diferentes características pues ambas entregan información válida, pero diferente, por ejemplo, sí un animal prefiere la dieta A sobre la B, no necesariamente va a consumir mayor cantidad de la dieta A al tener una única opción de consumo. A pesar de esto, estudios previos de anhedonia han utilizado ambas pruebas para cuantificar el placer de los animales posterior al estrés (Grønli *et al.*, 2005; Koob y Zimmer, 2012).

Los primeros consumos durante esta etapa, mostraron ser similares al comportamiento de la preferencia entre agua y sacarosa, existiendo un mayor porcentaje en el primer consumo de la solución de sacarosa en concentraciones 3% y 4% con respecto a agua, y no así en concentraciones más bajas (1% y 2%). Los resultados durante la etapa de mejoramiento en las condiciones de bienestar (alimentación, paseo, enriquecimiento ambiental) tienen menor relevancia, debido al gran porcentaje de animales que no realizaron la prueba dentro del período de observación (diez primeros segundos, luego de ingresar los bebederos al canil). Por lo que la variabilidad o no existencia de los datos no permite validar esta prueba como una medida de palatabilidad, pero al entregar resultados similares a los de las preferencias, podría seguir estudiándose y ser comparada con otras pruebas y posiblemente validada para



estudiar las preferencias alimentarias. Existen otras pruebas que se utilizan para estimar el placer al consumo, como el *test* de reactividad al sabor y el patrón de lamidos (Dwyer *et al.*, 2009; Lin *et al.*, 2012; Rhinehart-Doty *et al.*, 1994). Estas pruebas podrían adaptarse para ser realizadas en perros y así poder compararlas con las pruebas de preferencia realizadas para estimar la palatabilidad de ciertos alimentos.

En el primer protocolo de bienestar (alimentación), se observó tendencia a preferir la solución de sacarosa 1% en el caso de los animales pertenecientes al grupo estrés (una ración al día). Lo anterior puede deberse a la restricción alimentaria que mantenían los animales estresados y al observar que no eran alimentados al finalizar las pruebas de preferencia, como los animales del grupo bienestar, por lo que buscaban una mayor ingesta energética al anticipar esta situación. En el caso del paseo como factor de bienestar y a diferencia de lo anterior, se observó un comportamiento similar al descrito en otros trabajos a pesar de no obtener resultados significativos (Figueroa *et al.* 2012; Grønli *et al.*, 2005; Matthews *et al.*, 1995), donde los animales estresados disminuyeron su consumo de sacarosa en la menor concentración utilizada, pero prefirieron la solución dulce al aumentar la concentración (en este caso del 1% al 3%), lo que podría explicarse por un mayor efecto del factor paseo sobre los perros estresados al observar cuando sacaban de los caniles a los perros del grupo bienestar, aumentando su nivel de estrés y asemejándose a las pruebas donde se realizan protocolos de estrés.

Resulta interesante observar el efecto que tiene la edad de los animales sobre la detección de sacarosa en condición basal. Los animales adultos del presente experimento, mostraron preferencias por soluciones de sacarosa (30 g/L y 40 g/L) versus agua. Sin embargo, los perros viejos (>6 años) no fueron capaces de preferir este carbohidrato. Este efecto podría explicarse por una disminución sensitiva en los perros de mayor edad, específicamente en el olfato (Muller, 2006), lo que no permitiría diferenciar de una manera adecuada entre agua y soluciones dulces, como la sacarosa (30 g/L y 40 g/L), a diferencia de los perros adultos que sí fueron capaces de diferenciar las soluciones. Los resultados obtenidos demuestran la importancia de mantener un grupo de animales homogéneo para el estudio de la conducta alimentaria en cuanto a edad siendo necesario un recambio continuo de animales a medida que empiezan a envejecer y sus capacidades de detección de ciertas

claves volátiles empiezan a verse afectado. La disminución en la percepción de elementos palatables debido a la edad, podría tener importancia a la hora de formular dietas específicas para animales viejos, teniendo que aumentar la palatabilidad del producto final para volverlo más apetecible, lo que se podría realizar a través de la inclusión de aromas que estimulen el consumo sin afectar la digestibilidad y el metabolismo de la dieta.

Se observó que en las menores inclusiones de sacarosa utilizadas (10 g/L y 20 g/L) no existe diferencia en el consumo entre las soluciones dulces y agua en ninguno de los grupos etarios, por lo que esto podría representar la concentración mínima para la detección del sabor dulce en el caso de la sacarosa (30 g/L), a diferencia de otras especies como el cerdo (Glaser *et al.*, 2000) y las ratas (McCaughey, 2008) donde la concentración mínima detectable es de 5 g/L, mostrando una preferencia evidente. La diferencia en la concentración mínima preferible entre estas especies y el perro, podría deberse a su evolución desde un ancestro carnívoro, el lobo (*Canis lupus*), por lo cual el organismo del perro ha tenido que adaptarse a una dieta omnívora, lo que incluye mayores cantidades de carbohidratos, esto se demuestra en los cambios que han ocurrido en su metabolismo en cuanto a la digestión de los carbohidratos (Axelsson *et al.*, 2013), por lo que podría contar con menor cantidad de receptores para el sabor dulce, que se relaciona con estos compuesto, en comparación a los animales que han evolucionado de ancestros omnívoros. Otra posible explicación para la diferencia en las concentraciones mínimas entre especies, sería que los animales al encontrarse estresados desde un comienzo, ya presentaban una disminución en el placer al consumir soluciones dulces.

Diversos factores tales como la heterogeneidad de animales (Bradshaw, 2006), en cuanto a edad (Muller, 2006), sexo (Houpt *et al.*, 1979; Smith *et al.*, 1983), raza (Mehrkam y Wynne, 2014) y condición corporal (Nakamura *et al.*, 2008; Sartor *et al.*, 2011), podrían provocar la gran variabilidad en los consumos obtenidos, haciendo necesario un mayor número de perros o mayor homogenización para poder trabajar en estudios posteriores complementarios. La variabilidad en el consumo también puede responder a factores externos como los cambios en la temperatura ambiental que se presentaron durante el desarrollo de las diversas pruebas, observándose que temperaturas elevadas disminuyeron la actividad de los canes al momento de los ensayos.

Por otro lado, para realizar este estudio se realizaron protocolos de bienestar, asumiendo que los perros se encontraban estresados desde un comienzo, debido a que las condiciones del canil donde se trabajó se asimilan a algunas de las situaciones estresantes descritas en la literatura (Beerda *et al.*, 1997; Pullena *et al.*, 2010; Rooney *et al.*, 2007; Rooney *et al.*, 2009), a pesar de esto, se requiere hacer estudios etológicos más complejos y/o estudios hormonales seriados para observar el comportamiento hormonal (cortisol) en cada perro durante el estudio, para disminuir de manera efectiva el estrés en los perros del canil. Sin embargo, una manera más clásica y posiblemente más adecuada para ajustar el diseño experimental, sería generando condiciones estresantes para el grupo experimental, tal como se realiza en la mayoría de estudios sobre estrés y anhedonia en ratas (Grønli *et al.*, 2005; Matthews *et al.*, 1995) o en trabajos de estrés y sacarosa en cerdos (Figuroa *et al.*, 2012). Adicionalmente, se podrían emplear tiempos mayores de exposición a factores estresantes o de bienestar que separen ambos grupos experimentales, lo que mejoraría los resultados obtenidos, ya que el tiempo utilizado en el presente estudio pudo no haber sido suficiente, en comparación a protocolos de CMS (Grønli *et al.*, 2005; Harris *et al.*, 1997; Willner *et al.*, 1987) para realizar un cambio en la condición basal de estrés que mantendrían de manera crónica los perros utilizados.

En conclusión, los resultados de este estudio no fueron concluyentes en cuanto al efecto del estrés sobre la preferencia por soluciones palatables, por lo que es necesario realizar cambios en el diseño experimental utilizado para estudiar la anhedonia en perros. Sin embargo, cabe destacar que las edades de los animales influyeron en las preferencias por sacarosa, por lo que es importante considerar la palatabilidad en dieta para perros mayores y la composición homogénea de grupos de animales utilizados para estudiar la conducta alimentaria.

## BIBLIOGRAFÍA

- **AXELSOON, E.; RATNAKUMAR, A.; ARENDT, M-L.; MAQBOOL, K.; WEBSTER, M.; PERLOSKI, M.; LIBERG, O.; ARNEMO, J.M.; HEDHAMMAR, A.; LINDBLAD-TOH, K.** 2013. The genomic signature of dog domestication reveals adaptation to a starch-rich diet. *Nature* 495:360–364.
- **BALCOMBE, J.** 2009. Animal Suffering and Welfare Animal pleasure and its moral significance. *App. Anim. Behav. Sci.* 118(3–4):208–216.
- **BEAVER, B.** 2009. Canine Ingestive Behavior. **In:** *Canine Behavior Insights and Answers*. 2ª ed. Saunders. USA. pp. 223–243.
- **BEERDA, B.; SCHILDER, M.; VAN HOOFF, J.; DE VRIES, H.** 1997. Manifestations of chronic and acute stress in dogs. *App. Anim. Behav. Sci.* 52(3–4):307–319.
- **BRADSHAW, J.** 2006. The evolutionary basis for the feeding behavior of domestic dogs (*Canis familiaris*) and cats (*Felis catus*). **In:** *The Waltham international nutritional sciences symposium: Innovations in companion animal nutrition held. Washington, USA. 15-18 Septiembre 2005.* pp. 1927–1931.
- **CABANAC, M.** 1971. Physiological Role of Pleasure. *Science* 173:1103–1107.
- **DWYER, D.M.; PINCHAM, H.L.; THEIN, T.; HARRIS, J.A.** 2009. A learned flavor preference persists despite the extinction of conditioned hedonic reactions to the cue flavors. *Learn. Behav.* 37(4):305–310.
- **FIGUEROA, J.; SOLÀ-ORIO, D.; PÉREZ, J.; MANTECA, X.** 2012. Acute stress in post-weaned pigs increases the detection threshold for sucrose. **In:** *46th International Congress of the International Society for Applied Ethology. Vienna, Austria. 31 Julio–4 Agosto 2012.*
- **GLASER, D.; WANNER, M.; TINTI, J.M.; NOFRE, C.** 2000. Gustatory responses of pigs to various natural and artificial compounds known to be sweet in man. *Food Chem.* 68:375–385.
- **GRØNLI, J.; MURISON, R.; FISKEA, E.; BJORVATNB, B.; SØRENSEN, E.; PORTAS, C.; URSINA, R.** 2005. Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions. *Physiol. Behav.* 84:571–577.

- **HARRIS, R.; ZHOU, J.; YOUNGBLOOD, B.; SMAGIN, G.; RYAN, D.** 1997. Failure to Change Exploration or Saccharin Preference In Rats Exposed to Chronic Mild Stress. *Physiol. Behav.* 63(1):91–100.
- **HENNESSY, M.** 2013. Using hypothalamic–pituitary–adrenal measures for assessing and reducing the stress of dogs in shelters. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 149(1–4):1–12.
- **HO, N.; SOMMERS, M.** 2013. Anhedonia: A Concept Analysis. *Arch. Psychiat. Nurs.* 27(3):121–129.
- **HOUP, K.A.; COREN, B.; HINTZ, H.F.; HILDERBRANT, J.E.** 1979. Effect of sex and reproductive status on sucrose preference, food intake, and body weight of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 174:1083–1085.
- **HUSTON, J.; SILVA, M.; KOMOROWSKI, M.; SCHULZ, D.; TOPIC, B.** 2013. Animal models of extinction-induced depression: Loss of reward and its consequences. *Neurosci. Biobehav. R.* 37(9):2059–2070.
- **KOOB, G.; ZIMMER, A.** 2012. Animal models of psychiatric disorders. **In:** Aminoff, M.; Boller, F.; Swaab, D. (Eds). *Handbook of Clinical Neurology.* 3<sup>a</sup> ed. Elsevier. pp. 137–166.
- **LIN, J.; AMODEO, L.; ARTHURS, J.; REILLY, S.** 2012. Taste neophobia and palatability: The pleasure of drinking. *Physiol. Behav.* 106:515–519.
- **MATTHEWS, K.; FORBES, N.; REID, I.** 1995. Sucrose Consumption as an Hedonic Measure Following Chronic Unpredictable Mild Stress. *Physiol. Behav.* 57(2):241–248.
- **MEHRKAM, L.R.; WYNNE, C.D.** 2014. Behavioral differences among breeds of domestic dog (*Canis lupus familiaris*): current status of the science. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 155:12–27.
- **MCCAUGHEY, S.** 2008. The taste of sugars. *Neurosci. Biobehav. R.* 32:1024–1043.
- **MULLER, G.** 2006. The Social Role of Food and Behavioral Pathologies in the Dog **In:** Pibot, P.; Biourge, V.; Elliot, D. *Encyclopedia of Canine Clinical Nutrition.* Aniwa SAS. Aimargues, Francia. pp. 481–491.
- **NAKAMURA, Y.; SANEMATSU, K.; OHTA, R.; SHIROSAKI, S.; KOYANO, K.; NONAKA, K.; SHIGEMURA, N.; NINOMIYA, Y.** 2008. Diurnal variation of

human sweet taste recognition thresholds is correlated with plasma leptin levels. *Diabetes*. 57:2661–2665.

- **PULLENA, A.; NDEDE, R.; STEPHEN, J.** 2010. Preferences for toy types and presentations in kennel housed dogs. *App. Anim. Behav. Sci.* 125:151–156.
- **RHINEHART-DOTY, J.A.; SCHUMM, J.; SMITH, J.C.; SMITH, G.P.** 1994. A non-taste cue of sucrose in short-term taste tests in rats. 1994. *Chem. Senses* 19(5):425–431.
- **ROONEY, N.; GAINES, S.; BRADSHAW, J.** 2007. Behavioural and glucocorticoid responses of dogs (*Canis familiaris*) to kennelling: Investigating mitigation of stress by prior habituation. *Physiol. Behav.* 92(5):847–854.
- **ROONEY, N.; GAINES, S.; HIBY, E.** 2009. A practitioner's guide to working dog welfare. *J. Vet. Behav.-Clin. Appl. Res.* 4(3):127–134.
- **SARTOR, F.; DONALDSON, L.F.; MARKLAND, D.A.; LOVEDAY, H.; JACKSON, M.J.; KUBIS, H.P.** 2011. Taste perception and implicit attitude toward sweet related to body mass index and soft drink supplementations. *Appetite*. 57:237–246.
- **SMITH, S.L.; KRONFELD, D. S.; BANTA, C.A.** 1983. Owners' perception of food flavor preferences of pet dog in relation to measured preferences of laboratory dogs. *Appl. Anim. Eth.* 10:75–87.
- **WILLNER, P.; TOWELL, A.; SAMPSON, D.; SOPHOKLEOUS, S.; MUSCAT, R.** 1987. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology* 93:358–364.
- **WILLNER, P.** 1997. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology* 134:319–329.
- **WSAVA.** 2011. Nutritional assessment guidelines. *J. Small Anim. Pract.* 00:1–12.