

Tryptophan effect on dog behavior: a review

Valeria Dipace*

Veterinary behaviorist free lancer

Key Words: dog; tryptophan; behavior, diet.

* *Corresponding Author:* valeria.dipace@gmail.com

In recent years the attention of researchers has increasingly focused on the possible effects that diet can have on behavior (e.g. Gatta et al., 2012). Following these studies numerous food supplements and complete feed for dogs were produced, with the aim of modifying their behavior and reducing the stress as perceived by the owners (Mariti et al., 2012).

Many neurotransmitters, mediating communication between cells and acting as trophic factors in the processes of neurogenesis, derive from precursors introduced with the diet. Among these, L-tryptophan, an essential amino acid precursor of serotonin (5-HT, 5-hydroxytryptamine), has been the subject of numerous studies that have shown its blood concentrations are closely correlated with those of proteins and carbohydrates in the diet (Fernstrom, 1972b).

Serotonin synthesis starts from L-tryptophan provided from the diet and transported within cells. The enzyme that catalyzes the reaction is the tryptophan-hydroxylase that converts tryptophan to 5-hydroxytryptophan (5-HTP). The intermediate metabolite 5-HTP is then decarboxylated by the enzyme carboxylase to 5-HT, stored in vesicles of the serotonergic neurons before releasing (Bosch et al., 2007).

From a behavioral perspective, the serotonergic system controls different behaviors. Serotonin plays an important role in regulating mood and overly reactive behavior, has inhibitory effects on sexuality, sensitivity to pain and feeding behavior, regulates sleep, acts in the control of vomiting, aggression, phobic states, anxiety and stress-related (Colangeli, 2004).

Lesions of the serotonergic system in laboratory animals lead to aggressive behavior and loss of inhibition. Very aggressive and impulsive behaviors are related, in humans and primates, to low levels of 5-hydroxy-indoloacetic acid (5HIAA), major urinary metabolite of serotonin as well as to reduced levels of 5-HT in the brain of laboratory animals (Fernstrom, 2000).

Many researchers have suggested that higher levels of L-tryptophan, introduced with the diet, can have positive effects on behavior, but numerous studies conducted on humans and animals, have had ambiguous results on the effectiveness of a diet enriched with this aminoacid (Bosch et al., 2007; Overall, 2013).

In assessing the effectiveness of L-tryptophan on certain aspects of behavior it is important to consider that there are many factors involved on the availability of this aminoacid in the nervous system. The transport of L-tryptophan across the hematoencephalic barrier is partly influenced, in animals, by several factors such as breed, gender, social status, age, activity and the level of arousal

of the subject (Bosch et al, 2007). Also inflammatory processes and drugs like corticosteroids can lead to reduced availability of L-tryptophan to increased catabolism. The enzymes that degrade L-tryptophan are the indoloammin-2,3-dioxygenase (IDO) and tryptophan-2,3-dioxygenase (TDO) that determine the production of kynurenine, which inhibits the transport of L-tryptophan through the hematoencephalic barrier and stimulates the activity of IDO, inducing anxiety in animal models. Both enzymes are stimulated by inflammatory cytokines which increase the metabolism of L-tryptophan decreasing its availability for the synthesis of serotonin.

Also corticosteroids reduce the levels of circulating L-tryptophan, inducing increased activity of TDO and this is one of the possible explanations of the behavioral changes described in dogs treated with these drugs (Maes et al., 2011; Overall, 2013; Marazziti et al., 2013).

In addition to these, two others factors, at the current state of knowledge, appear influencing, in a decisive way, the L-tryptophan bioavailability: its relative concentration respect LNAA (large electrically neutral amino acids: tyrosine, phenylalanine, leucine/isoleucine and valine) (Fernstrom & Wurtman, 1972a) and its binding to albumin (Chaouloff, 1993). In fact, although L-tryptophan is contained in most of the proteins, its real availability depends on the amount of other amino acids present, and particularly of the amino acids LNAA. Both L-tryptophan and LNAA are transported through the blood-brain barrier by the same carrier for which the LNAA have, however, higher affinity. Therefore in a diet rich in proteins, L-tryptophan is available to a lesser degree than the other amino acids.

As for the binding to albumin, about 80-90% of L-tryptophan circulates in the blood, bound to this protein. This bond does not prevent to L-tryptophan to cross the blood-brain barrier and even increases the bioavailability, preventing the uptake induced by insulin in muscles, as with other amino acids LNAA (Fernstrom & Wurtman, 1972b). This effect was shown by a study by Fernstrom & Fernstrom (1995) in rats. Fasted rats ingested a carbohydrate meal, followed 2 h later by another protein meal and were examined 2 and 4 h after the first meal. Other rats ingested a protein meal first, followed by a carbohydrate meal. When the carbohydrate meal was fed first, brain L-tryptophan and serotonin synthesis concentrations increased at 2 h, if protein content of the second meal was $\leq 6\%$. When the protein meal was fed first, there were no changes in brain L-tryptophan or serotonin at 2 h.

In humans, the involvement of the serotonergic system affects conditions such as depression, anxiety, schizophrenia, impulsivity and aggression, obsessive-compulsive disorders. Human studies on the definition of the biological basis of depression speculated that the disease was caused by a deficiency of monoamine neurotransmitters (monoamine hypothesis) particularly norepinephrine (NE) and serotonin (5-HT). In a study by Delgado et al., the effects of a diet with low concentration of L-tryptophan on patients suffering of a depressive syndrome were evaluated. The authors noted that the depletion of L-tryptophan, induced by the administration of a specific diet with a low content of this aminoacid, caused, in most cases, a relapse of depression. When patients resumed a diet with normal levels of L-tryptophan, the symptoms resolved (Delgado et al., 1990).

In a research carried out by Neumeister et al., administration of capsules containing a mixture of essential aminoacids except L-tryptophan, has induced a transient return of symptoms in patients with a previous diagnosis of depression (Neumeister et al. 2004). Other studies have however shown that the depletion of L-tryptophan has little or no effect on the mood of normal subjects, although it is able to reduce the mood of people with a personal or family history of affective disorder (Young et al., 2002).

The monoamine hypothesis of the origin of the depressive disorder is now being questioned by many researchers. The studies suggest that serotonin plays a critical role in the pathology, but the L-tryptophan depletion results in depression only in people with a personal or family history of the disease (Carlson, 2014).

The correlation between a diet enriched in the L-tryptophan (by the administration of a-lactalbumin, a protein containing high levels of L-tryptophan) and the capacity of stress coping in hu-

mans has been analyzed in a study by Markus et al. Research has shown, in patients treated with a high levels of L-tryptophan diet, a high plasma availability of that aminoacid and a decrease in cortisol concentration (Markus et al., 2000).

Some studies, using diets enriched with L-tryptophan, were performed in mice to highlight possible correlations between blood concentrations of serotonin and aggressive behavior, but the results were ambiguous. Gibbons et al. (1979) fed a group of mice with a diet L-tryptophan free, for 4-6 days, and observed the appearance of aggressiveness in strains of non-aggressive animals. The increase in aggressive behavior, induced by the deficiency of L-tryptophan, was accompanied, by a reduction of serotonin and 5-idroxy-indolacetic acid (5-HIAA). This study confirmed that the serotonergic system exerts an inhibitory control of impulsive-aggressive behavior in mice.

Other studies have examined the effect of L-tryptophan added to the diet on behavior of territorial aggression and on locomotor activity. The diet containing L-tryptophan induced in mice kept in isolation an increase in aggressive behavior, which reached its peak after 10 days of diet and did not cause changes in locomotor activity. (Lasley & Thurmond, 1985).

In another study on mice kept in isolation and fed an L-tryptophan diet-free, a reduction in aggressive behavior was observed (Kantak et al., 1980).

Studies carried out on pigs have shown that a diet enriched with L-tryptophan can promote a better recovery in stressful situations induced by a social stress (Peeters et al., 2005).

Diets high in L-tryptophan have also been used in other species to assess the effects on behavior. In vervet monkeys there was a reduction in aggressive behavior, in foxes a decrease of fear and an increase of exploratory behavior and in rhesus monkeys a reduction in behaviors of self-mutilation (Bosch et al., 2007).

In riding the L-tryptophan in low doses it is marketed as a calming agent for excitable horses. The studies are few and failed to confirm anecdotal data about calming effects on the behavior of excitable horses; high-dose of L-tryptophan, orally administered, can cause acute hemolytic anemia in horses. Therefore the researchers believe it is important to carry out more research on the use of this aminoacid in this species to verify the real effectiveness on behavior at therapeutic and safe doses (Grimmett & Sillence, 2005).

In light of the research findings, L-tryptophan was considered as a possible therapeutic treatment for disorders characterized by low serotonin levels, but past studies have provided conflicting data.

L-tryptophan role in the dog

Studies on the effects of L-tryptophan on dog behavior are limited and mainly for the evaluation of the effect of this aminoacid on aggressive, anxious and hyperactive subjects and those suffering from obsessive-compulsive disorder.

Some studies have shown that in dogs the hematic and intracerebral concentration of serotonin is lower in aggressive individuals, compared to non-aggressive (Cakiroglu et al., 2007; Reisner et al., 1996; Badino et al., 2004). In the English cocker spaniel, suffering from aggression by impulsivity, serotonin levels are even more reduced than in dogs of other breeds (Amat et al., 2013).

Other studies have tested the hypothesis that, in a low protein diet, the availability of L-tryptophan in the brain is greater because the tryptophan must compete to a lesser extent with LNAA to cross the emato-encephalic barrier.

In a first study (Mugford, 1987), on the correlation between the availability of L-tryptophan and food components, seven Golden Retrievers with aggression problems received a low-protein diet. The owners observed a reduction in aggressive behavior in three dogs. This research has, however, some methodological shortcomings as the composition of the diet, to which the L-tryptophan was added, is not known and therefore the results can not be considered completely reliable.

In a more recent study (Dodman et al., 1996) the effects of a diet with low (17%), medium (25%) and high (32%) protein content were evaluated in 14 dogs, while other 12 were control animals, presenting dominance aggression, hyperactivity and territorial aggression. The results showed that dogs with territorial aggression, fed a diet with low and medium protein content, showed a clear decrease in aggressive behavior.

De Napoli and colleagues (De Napoli et al., 2000) evaluated the effect of diets with different protein content and addition of L-tryptophan in dogs with dominance, territorial aggression and hyperactivity. Four diets were administered, for one week, to each group of 11 dogs, with an interval of at least 3 days between a diet and the other. Two diets contained a high level of protein (30%), the other two low proteins content (18%). One diet with high protein content and one with low content were added with 1.45 g/kg of L-tryptophan. The diet with high protein content added with L-tryptophan and that with low protein reduced aggressive behavior in the group of dogs suffering from dominance aggression. The territorial aggression underwent an improvement in the group fed the diet with low protein added with L-tryptophan.

The integration of L-tryptophan in the diet has been studied for clearing the implications of the serotonergic system on anxiety. Beatà et al. (2007) evaluated that 70% out of 2,700 cases of clinical disorders had an anxious basis. The management of anxiety symptoms is critical for the veterinary behaviourist who can use tools such as drugs and behavioral therapies. “Natural” treatments are often required by the owners who do not always willingly accept the use of a drug therapy for the risk related to the side effects. For this reason the recent studies on nutraceuticals are useful in clinical behavioral as additional therapeutic tools in clinical practice (Beatà et al., 2007).

In recent research, the effect of the integration of L-tryptophan, used individually or in addition to other nutraceuticals, in diets and supplements, for the treatment of disorders on the anxious basis has been evaluated. Bosch and colleagues have analyzed the effects of a diet supplemented with L-tryptophan on the behavior of owned dogs with mild anxious symptoms. 138 dogs participated in the study, carried out in double-blind: 66 dogs were fed with a control diet and 72 with a diet supplemented with L-tryptophan (5.7 g/kg). The owners compiled questionnaires pre-treatment and follow-up at 4 and 8 weeks. Out of 34 dogs of the control group and 39 of the treated group, a behavioral test was carried out, before the start of the experimental test and after 8 weeks of treatment. Aminoacids plasmatic concentrations were measured in 15 dogs of each group. L-tryptophan diet determined an increase in the plasma concentration of this aminoacid by 37.4% and its ratio with LNAA by 31.2%, compared to the control group. Although the levels of L-tryptophan were significantly increased in dogs fed the diet added with this aminoacid, the owners and the researchers did not observe a significant change in behavior of dogs compared to the control group (Bosch et al., 2009).

As for the obsessive-compulsive disorders, a study of 29 dogs that presented different symptomatology attributable to compulsive disorders and treated for 2 weeks with a diet supplemented with L-tryptophan, has not found significant improvements (Kaulfuss et al., 2009).

The results of these studies do not provide encouraging data for the use of L-tryptophan in order to change the behavior of the dog.

Different data were obtained, instead, for the combined administration of L-tryptophan with other nutraceuticals.

In a study carried out by Cannas et al., a supplement of *Valeriana officinalis*, *Melissa officinalis* and L-tryptophan was given to a group of 15 dogs and a further group of 15 dogs was used as a control. The symptoms related to anxiety of each dog were identified through specific questionnaires provided to the owners. No behavioral therapy was performed. After two months a follow-up questionnaire was given to the owners. Dogs, treated with the supplement, obtained significantly lower scores than the control group, showing significant improvements in the frequency and intensity of some of the symptoms analyzed, such as: “follow the owner”, “do not answer the call”, “aggressive manifestations” “eliminations inappropriate”, “excessive vocalizations,” “destructions” and “coprophagy” (Cannas et al., 2013).

Kato et al. (2012) tested, however, the effectiveness of a diet supplemented with L-tryptophan (3.04 g/kg of dry matter) and alpha-casozepina (1.35 g/kg of dry matter), a decapeptide derivative of casein hydrolysis alfa-S1-casein, in situations of acute stress such as a visit to the veterinarian for nail cutting. Stress levels were evaluated by assessing the relationship between cortisol and urinary creatinine (UCCR) and questionnaire C-Bark (Serpell & Hsu, 2001). After seven weeks with the diet he witnessed a significant reduction in the scores for the following behaviors: aggression toward strangers, fear of strangers, fear not social and sensitivity to physical contact. Even the UCCR on the urinary sample, obtained after the stressful event constituted by the veterinary examination ($32.17 \pm 0.21 \times 10^{-6}$) was significantly lower ($p=0.04$) than before the examination ($39.61 \pm 0.3 \times 10^{-6}$).

Conclusions

Based on these studies the use of L-tryptophan in the behavioral clinic of the dog is still controversial. While there is evidence of efficacy of products containing L-tryptophan and other substances in the course of anxiety syndrome and stress, the use of only L-tryptophan in the control of canine aggression has given, until now, inconclusive results. Some authors recommend feeding aggressive dogs with high carbohydrate and low protein diets in order to help L-tryptophan to overcome the emato-encephalic barrier. Another supplement promoting serotonin formation is Vitamin B6 (important coenzyme for the neurotransmitters including serotonin) (Bowen & Heath 2005; Horwitz & Mills 2009; Landsberg, 2013).

According to Landsberg the prescription of a test diet for 7-10 days may be useful for evaluating the effectiveness of a change of diet in the treatment of behavioral pathology especially on the basis of aggressiveness. A homemade diet, made up of a type of protein of high biological value and a carbohydrate (with a ratio between meat and carbohydrates of 1 to 4) or a commercial low protein diet (such as specific diets for kidney failure, with 16% of protein content) can be used. If the change of feeding give relevant results at the behavioral level, the diet must be properly balanced and integrated. It will have to evaluate whether the positive effects were induced by the type of protein used (which can result in a reduction of possible effects induced by food intolerance on dog health with possible behavioral effects) or by the reduction of the protein (Landsberg et al., 2013).

Horwitz & Mills suggest the administration of a dose of carbohydrates from 30 minutes to 3 hours after the meal containing proteins; this causes a significant increase in the release of insulin facilitating the passage of L-tryptophan across the emato-encephalic barrier (Horwitz & Mills, 2009).

L-tryptophan administration is not without side effects of any severity for the dog, such as eosinophilia and myalgia followed by myopathy and neuropathy, fibrotic and atrophic pancreatitis. (Overall, 2013) In humans, it is also used the 5-HTP, which undergoes rapid intestinal absorption and a fast crossing of the emato-encephalic barrier. This metabolite does not cause side effects of great magnitude in our species, unlike what happens in the dog in which it is responsible of significant clinical symptoms, mainly neurological and gastrointestinal (seizures, depression, tremors, hyperesthesia, ataxia, vomiting, diarrhea, abdominal pain, hypersalivation, hyperthermia and transient blindness), with sometimes fatal outcomes (Gwaltney-Brant, 2000).

Bibliography

- Amat M., Le Brech S., Camps T., Torrente C., Mariotti V.M., Ruitz J.L., Manteca X. Differences in serotonin serum concentration between aggressive English Cocker Spaniel and aggressive dogs of other breeds. *J.V.B.* 2013; 8: 19-25.
- Badino P., Odore R., Osella M.C., Bergamasco L., Francone P., Gilardi C., Re G. Modifications of serotonin-ergic and adrenergic receptor concentrations in the brain of aggressive *Canis familiaris*. *Comp. Biochem. Physiol. A-Mol. Integr. Physiol.* 2004; 139: 343-350.

- Beata C., Beaumont-Graff E., Diaz C., Marion M., Massal N., Marlois N., Muller G., Lefranc C. Effects of alpha-casozepine (Zylkene) versus selegiline hydrochloride (Selgian, Anipryl) on anxiety disorders in dogs. *J.V.B.* 2007; 2: 175-183.
- Bosch G., Beerda B., Hendriks W.H., van der Poel A.F.B., Verstegen M.W.A. Impact of nutrition on canine behavior: current status and possible mechanisms. *Nutr. Res. Rev.* 2007; 20: 180-194.
- Bosch G., Beerda B., Beynen A. C., van der Borg J., van der Poel A.F.B., Hendriks W.H. Dietary tryptophan supplementation in privately owned mildly anxious dogs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2009; 121: 197-205.
- Bowen J., Heath S. Canine compulsive disorders. In: Behavior problems in small animals. Practical advice for the veterinary team. (2005). Elsevier Saunders. 97-108.
- Cannas S., Scagli E., Maltese F., Michelazzi M. Evaluation of a diet supplement on anxiety signs on dog. *J.V.B.* 2013; 8: e27.
- Carlson N.R., *Fisiologia del comportamento.* (2014) Piccin Cap16; 552-583.
- Cakiroglu D., Meral Y., Sancak A.A., Cifti G. Relationship between the serum concentrations of serotonin and lipids and aggression in dogs. *Veterinary Record.* 2007; 161: 59-61.
- Chaouloff F. Physiopharmacological interactions between stress hormones and central serotonergic systems. *Brain Res. Rev.* 1993; 18: 1-32.
- Colangeli R. Giussani S. Neuromediatori e psicofarmacologia. In: *Medicina comportamentale del cane e del gatto* (2004), Poletto Editore, 18-41.
- Delgado P.L., Charney D.S., Price L.H., Aghajanian G.K. Serotonin function and the mechanism of antidepressant action: Reversal of antidepressant induced remission by rapid depletion of plasma tryptophan. *Arch. Gen. Psych.* 1990; 47: 411-418.
- De Napoli J.S., Dodman N.H., Shuster L., Rand W., Gross K.L. Effect of dietary protein content and tryptophan supplementation on dominance aggression, territorial aggression, and hyperactivity in dogs. *J.A.V.M.A.* 2000; 217-225.
- Dodman N.H., Reisner I., Shuster L., Rand W., Leuscher U.A., Robinson I., Houpt K.A. Effect of dietary protein content on behavior in dogs. *J.A.V.M.A.* 1996; 208: 376-379.
- Fernstrom J.D., Wurtman R.J. Elevation of plasma tryptophan by insulin in rat. *Metabolism* 1972a; 21: 337-342.
- Fernstrom J.D., Wurtman R.J. Brain serotonin content: physiological regulation by plasma neutral amino acids. *Science.* 1972b; 178: 149-152.
- Fernstrom M.H., Fernstrom J.D. Brain tryptophan concentrations and serotonin synthesis remain responsive to food consumption after the ingestion of sequential meals. *Am. J. Clin. Nutr.* 1995; 61: 312-319.
- Fernstrom J.D. Can nutrient supplements modify brain function? *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 71: 1344-1352.
- Gatta D., Casini L., Pellegrini O., Lubas G., Gazzano A. Effetto sull'emissione fecale del cane di due diete a diversi livelli di carboidrati ed origine proteica e possibili effetti sul comportamento. *Veterinaria.* 2013; 5: 7-12.
- Gibbons J.L., Barr G.A., Bridger W.H., Leibovitz S.F. Manipulations of dietary tryptophan: effects on mouse killing and brain serotonin in rat. *Brain Res.* 1979; 169: 139-153.
- Grimmett A., Sillence M.N. Calmatives for the excitable horse: A review of L-tryptophan. *Veterinary Journal.* 2005; 170: 24-32.
- Gwaltney-Brant S.M., Albrechtsen J.C., Khan S.A. 5-Hydroxytryptophan toxicosis in dogs: 21 cases (1989-1999). *J.A.V.M.A.* 2000; 216: 1937-1940.
- Horwitz D.F., Mills D.S. Complementary therapies. In *BSAVA Manual of canine and feline behavioral medicine.* Second edition. (2009): 259-269.
- Kantak K.M., Hegstrand L.R., Eichelman B. Dietary tryptophan modulation and aggressive behavior in mice. *Pharm. Biochem. Behav.* 1980; 12: 675-679.
- Kato M., Kazuki M., Nobuyo O., Mitsuaki O. Effects of prescription diet on dealing with stressful situations and performance of anxiety-related behaviors in privately owned anxious dogs. *J.V.B.* 2012; 7: 21-26.
- Kaulfuss P., Hintze S., Wurbel H. Effect of tryptophan as dietary supplement on dogs with abnormal-repetitive behaviors. *J.V.B.* 2009; 4: 97.
- Lansberg G., Hunthausen W., Ackerman L. Feeding and diet related problems. In: *Behavior problems of the dog and cat.* Third edition. (2013) Elsevier Ltd Cap10: 151-161.
- Lasley S.M., Thurmond J.B. Interactions of dietary tryptophan and social isolation on territorial aggression, motor activity, and neurochemistry in mice. *Psychopharmacology.* 1985; 87: 313-321.

- Maes M., Leonard B.E., Myint A.M., Kubera M., Verkerk R. The new "5-HT" hypothesis of depression: Cell-mediated immune activation induces indoleamine 2,3 dioxygenase, which leads to lower plasma tryptophan and an increased synthesis of detrimental tryptophan catabolites, both of which contribute to the onset of depression. *Progr. Neuro-Psychopharm. Biol Psych.* 2011; 35: 702-721.
- Mariti C., Gazzano A., Lansdown Moore J., Baragli P., Chelli L., Sighieri C. Perception of dogs' stress by their owners. *J.V.B.* 2012; 7: 213-219.
- Markus C.R., Olivier B., Panhuysen G.E.M., van der Gugten J., Alles M.S., Tuiten A., Westenberg H.G.M., Fekkes D., Koppeschaar H.F., de Haan E.H.F. The bovin protein α -lactoalbumin increases the plasma ratio of tryptophan to other large neutral amino acids, and in vulnerable subjects raises brain serotonin activity, reduces cortisol concentration, and improves mood under stress. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 71: 1536-1544.
- Marazziti D., Baroni S., Picchetti M., Piccinni A., Silvestri S., Dell'Osso L. Nuovi sviluppi dell'ipotesi serotoninergica della depressione: shunt del triptofano. *Riv. Psichiatr.* 2013; 48: 23-34.
- Mugford R.A. The influence of nutrition on canine behavior. *J. Small Anim. Pract.* 1987; 28: 1046-1055.
- Neumeister A. Neural and behavioral responses to tryptophan depletion in unmedicated patients with remitted major depressive disorders and controls. *Arch. Gen. Psychiatry.* 2004; 61: 765-773.
- Peeters E., Neyt A., Beckers F., De Smet S., Aubert A.E., Geers R. Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C, and vitamin E on stress responses of pigs to vibration. *J. Anim. Sci.* 2005; 83: 1568-1580.
- Overall K.L. Pharmacological approaches to changing behavior and neurochemistry. In: *Manual of Clinical Behavioral medicine for dogs and cat* (2013), Elsevier Mosby, 458-490.
- Reisner I.R., Mann J.J., Stanley M., Huang Y.Y., Houpt K.A. Comparison of cerebrospinal fluid monoamine metabolite levels in dominant-aggressive and non-aggressive dogs. *Brain Research.* 1996; 714: 57-64.
- Serpell J., Hsu Y. Development and validation of a novel method for evaluating behavior and temperament in guide-dogs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2001; 72: 347-364.
- Young S.N. The role of serotonin in human mood and social interaction. Insight from altered tryptophan levels. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2002; 71: 857-865.

Effetto dell'L-triptofano sul cane

Valeria Dipace

Veterinario libero professionista

Sintesi

Negli ultimi anni l'attenzione dei ricercatori si è sempre più concentrata sui possibili effetti che la dieta può avere sul comportamento. In seguito a questi studi sono stati prodotti numerosi integratori alimentari e mangimi completi per il cane, con la finalità di modificarne il comportamento.

La sintesi della serotonina inizia dall'L-triptofano fornito dalla dieta e trasportato all'interno delle cellule. L'enzima che catalizza la reazione è la triptofano-idrossilasi che converte il triptofano in 5-idrossitriptofano (5-HTP). Il metabolita intermedio 5-HTP è quindi decarbossilato dall'enzima carbossilasi a 5-HT che è stoccata in vescicole nei neuroni serotoninergici prima di essere rilasciata.

Dal punto di vista comportamentale, il sistema serotoninergico controlla comportamenti differenti. La serotonina svolge un importante ruolo nella regolazione dell'umore e dei comportamenti eccessivamente reattivi, presenta effetti inibitori sul comportamento sessuale, sulla sensibilità al dolore e sul comportamento alimentare, regola il sonno, agisce nel controllo del vomito, dell'aggressività, di stati fobici e ansiosi e legati allo stress.

Molti ricercatori hanno ipotizzato che un aumento dei livelli di L-triptofano, introdotto con la dieta, possa avere effetti positivi sul comportamento, ma numerose ricerche, condotte sull'uomo e sugli animali, hanno dato risultati contrastanti sull'efficacia di una dieta arricchita con questo aminoacido.

Nella valutazione dell'efficacia del L-triptofano su alcuni aspetti comportamentali è importante considerare che sono numerosi i fattori che intervengono sulla disponibilità di questo aminoacido nel sistema nervoso. Il trasporto del L-triptofano attraverso la barriera emato-encefalica è in parte influenzato, negli animali, da diversi fattori quali la razza, il sesso, lo stato sociale, l'età, l'attività e il livello di arousal del soggetto. Anche i processi infiammatori e farmaci come i corticosteroidi possono indurre una riduzione della disponibilità di L-triptofano per aumento del catabolismo dell'aminoacido. Gli enzimi che degradano il L-triptofano sono la indoloammina-2,3-dioossigenasi (IDO) e la triptofano-2,3-dioossigenasi (TDO) che determinano la produzione di chinurenina, che inibisce il trasporto di L-triptofano attraverso la barriera emato-encefalica e stimola l'attività della IDO, inducendo ansia in modelli animali. Entrambi gli enzimi sono stimolati dalle citochine infiammatorie che aumentano quindi il metabolismo del L-triptofano diminuendone la disponibilità per la sintesi di serotonina.

Anche i corticosteroidi riducono i livelli di L-triptofano in circolo inducendo una maggiore attività della TDO e questa è una delle possibili spiegazioni dei cambiamenti comportamentali descritti in cani in terapia con questi farmaci.

Oltre a questi fattori ve ne sono altri due che, allo stato attuale delle conoscenze, sembrano influenzare, in modo determinante, la biodisponibilità dell'L-triptofano: la sua concentrazione relativa rispetto ai GAEN (grandi aminoacidi elettricamente neutri: tirosina, fenilalanina, leucina, isoleucina e valina) ed il suo legame con l'albumina. Infatti, nonostante l'L-triptofano sia contenuto nella maggior parte delle proteine, la sua reale disponibilità dipende dalla quantità degli altri aminoacidi presenti ed in particolar modo degli aminoacidi GAEN. Ciò deriva dal fatto che sia l'L-triptofano sia i GAEN sono trasportati attraverso la barriera emato-encefalica dagli stessi carrier per i quali i GAEN hanno, tuttavia, maggiore affinità. Pertanto in una dieta ricca di proteine, l'L-triptofano è disponibile in maniera minore rispetto agli altri aminoacidi.

Per quanto riguarda invece il legame con l'albumina, circa l'80-90% dell'L-triptofano circola nel sangue legato a questa proteina plasmatica. Questo legame non impedisce all'L-triptofano di attraversare la barriera emato-encefalica e anzi ne aumenta la biodisponibilità, impedendone l'uptake indotto dall'insulina nei muscoli, come avviene per gli altri aminoacidi di GAEN. Questo effetto è stato evidenziato da uno studio condotto da Fernstrom & Fernstrom (1995) sui ratti. Quando un pasto di carboidrati precedeva quello proteico le concentrazioni di L-triptofano e di serotonina nel cervello aumentavano ma non vi erano cambiamenti se il pasto proteico precedeva quello con i carboidrati.

Alla luce dei risultati delle ricerche effettuate, sia sull'uomo sia sugli animali, l'L-triptofano è stato considerato come possibile trattamento terapeutico per le patologie caratterizzate da bassi livelli di serotonina, ma gli studi effettuati hanno fornito dati contrastanti.

Il ruolo dell'L-triptofano nel cane

Gli studi sugli effetti dell'L-triptofano sul comportamento del cane sono limitati ed effettuati principalmente per la valutazione dell'effetto di tale aminoacido su soggetti aggressivi, ansiosi e iperattivi e affetti da disturbi ossessivo-compulsivi.

Alcuni studi hanno dimostrato che nel cane la concentrazione sierica ed intracerebrale di serotonina è più bassa nei soggetti aggressivi, rispetto a soggetti non aggressivi. Altri studi hanno testato l'ipotesi che, in una dieta a bassa percentuale proteica, la disponibilità dell'L-triptofano a livello cerebrale sia maggiore perché il triptofano deve competere in maniera minore con i GAEN per attraversare la barriera emato-encefalica.

In un primo studio, di Mugford, sulle correlazioni tra la disponibilità di L-triptofano e l'alimentazione, a sette Golden Retriever con problemi di aggressività è stata somministrata una dieta con una bassa percentuale proteica. I proprietari hanno osservato una riduzione dei comportamenti aggressivi in tre cani. Tale ricerca presenta, tuttavia, alcune carenze metodologiche poiché non è nota la composizione della dieta a cui è stato addizionato l'L-triptofano e pertanto i risultati non possono essere ritenuti del tutto attendibili.

In uno studio più recente (Dodman et al., 1996) gli effetti di una dieta a basso (17%), medio (25%) e alto (32%) contenuto proteico sono stati valutati su 14 cani di controllo e su 12 che presentavano aggressività da dominanza, iperattività e aggressività territoriale. I risultati evidenziarono che i cani con aggressività territoriale, alimentati con una dieta a basso e medio contenuto di proteine, mostravano un'evidente diminuzione dei comportamenti aggressivi.

De Napoli e colleghi hanno valutato l'effetto di diete a differente contenuto proteico e addizionate di L-triptofano su cani affetti da aggressività da dominanza, aggressività territoriale e iperattività. A ciascun gruppo di 11 cani sono state somministrate 4 diete per una settimana con un intervallo di almeno 3 giorni tra una dieta e l'altra. Due diete contenevano un elevato livello proteico (30%), le altre due un basso contenuto proteico (18%). Una dieta ad alto contenuto proteico ed una a basso contenuto erano addizionate con 1,45 g/kg di L-triptofano. La dieta ad alto contenuto proteico addizionata di L-triptofano e quella a basso contenuto proteico hanno ridotto i comportamenti aggressivi nel gruppo di cani affetti da aggressività da dominanza. L'aggressività territoriale ha subito un miglioramento nel gruppo alimentato con la dieta a basso contenuto proteico addizionata di L-triptofano, rispetto a quello alimentato con la dieta a basso contenuto proteico senza l'integrazione con questo aminoacido.

L'integrazione di L-triptofano nella dieta è stata studiata anche su soggetti ansiosi per le implicazioni del sistema serotoninergico sui disturbi comportamentali su base ansiosa. Da una valutazione effettuata da Beata e coll. su 2700 casi clinici, i disturbi su base ansiosa rappresentano il 70% della casistica in medicina comportamentale. La gestione dei sintomi legati all'ansia è fondamentale per il veterinario comportamentista che ha a disposizione come strumenti farmaci e terapie comportamentali. L'uso di trattamenti "naturali" è spesso richiesto dai proprietari che non sempre accettano di buon grado l'utilizzo di una terapia farmacologica per il rischio relativo agli effetti collaterali che comporta. Ed è per questo motivo che i recenti studi effettuati su nutraceutici sono utili nella clinica comportamentale come ulteriori strumenti terapeutici nella pratica clinica.

In ricerche recenti è stato valutato l'effetto della integrazione di L-triptofano utilizzato singolarmente o in aggiunta ad altri nutraceutici, in diete e integratori, per il trattamento dei disturbi su base ansiosa. Bosch e colleghi hanno analizzato gli effetti di una dieta addizionata di L-triptofano sul comportamento di cani di proprietà con lievi sintomi su base ansiosa. Parteciparono allo studio, effettuato in doppio cieco, 138 cani: 66 alimentati con una dieta di controllo e 72 con una dieta addizionata di L-triptofano (5,7 g/kg). I proprietari compilarono questionari pre-trattamento e di follow-up a 4 e 8 settimane. Su 34 cani del gruppo di controllo e su 39 del gruppo trattato fu effettuato un test comportamentale prima dell'inizio della prova sperimentale e dopo 8 settimane di trattamento. Su 15 cani di ogni gruppo furono valutate le con-

centrazioni plasmatiche degli aminoacidi. L'utilizzo della dieta con L-triptofano determinò un aumento della concentrazione plasmatica di questo aminoacido del 37,4% e del suo rapporto rispetto ai GAEN del 31,2%, rispetto al gruppo di controllo. Sebbene i livelli di L-triptofano fossero significativamente aumentati nei cani alimentati con la dieta addizionata con questo aminoacido, i proprietari e i ricercatori non osservarono sensibili cambiamenti nel comportamento dei cani rispetto al gruppo di controllo.

Per quanto riguarda i disturbi ossessivo-compulsivi, uno studio effettuato su 29 cani che presentavano diversa sintomatologia riferibile a disturbi compulsivi e trattati per 2 settimane con una dieta addizionata di L-triptofano, non ha rilevato significativi miglioramenti.

I risultati di queste ricerche non forniscono dati incoraggianti per l'utilizzo dell'L-triptofano al fine di modificare il comportamento del cane.

Dati differenti sono stati ottenuti invece dalla somministrazione combinata dell'L-triptofano con altri nutraceutici.

In uno studio effettuato da Cannas e coll., ad un gruppo di 15 cani fu somministrato un integratore a base di *Valeriana officinalis*, *Melissa officinalis* e L-triptofano e un ulteriore gruppo di 15 cani fu utilizzato come controllo. I sintomi legati all'ansia di ciascun cane furono individuati mediante appositi questionari forniti ai proprietari e non fu associata alcuna terapia comportamentale. Dopo due mesi fu fornito ai proprietari un questionario di follow-up. I cani trattati con l'integratore ottennero punteggi sensibilmente più bassi rispetto al gruppo di controllo, mostrando significativi miglioramenti nella frequenza e intensità di alcuni dei sintomi analizzati quali: "seguire il proprietario", "non rispondere al richiamo", "manifestazioni aggressive", "eliminazioni inappropriate", "eccessive vocalizzazioni", "distruttività" e "coprofagia".

Kato et al. (2012) verificarono, invece, l'efficacia di una dieta addizionata di L-triptofano (3,04 g/kg di sostanza secca) e alfa-casozepina (1,35 g/kg di sostanza secca), un decapeptide derivato della caseina ottenuto per idrolisi dall'alfa-S1-caseina, in situazioni di stress acuto quali la visita dal veterinario per il taglio delle unghie. I livelli di stress furono valutati mediante valutazione del rapporto urinario tra cortisolo e creatinina (UCCR) e con il questionario C-Bark (Serpell & Hsu, 2001). Dopo 7 settimane con la dieta si assistette ad una significativa riduzione degli score per i seguenti comportamenti: aggressività verso estranei, paura verso gli estranei, paura non sociale, sensibilità al contatto fisico. Anche l'UCCR relativo al prelievo urinario effettuato dopo l'evento stressante costituito dalla visita veterinaria ($32,17 \pm 0,21 \times 10^{-6}$) risultò significativamente inferiore ($p=0,04$) a quello prima della visita ($39,61 \pm 0,3 \times 10^{-6}$).

Conclusioni

Sulla base di queste ricerche l'utilizzo dell'L-triptofano nella clinica comportamentale del cane è ancora controverso. Se da un lato esistono prove di efficacia di prodotti contenenti L-triptofano ed altre sostanze in corso di sindrome ansiosa e di stress, l'uso del solo L-triptofano nel controllo dell'aggressività canina ha dato per ora risultati non definitivi. Alcuni autori consigliano di somministrare ai cani aggressivi pasti con alti livelli di carboidrati e bassi livelli di proteine in modo da favorire il superamento della barriera emato-encefalica da parte dell'L-triptofano. Un ulteriore supplemento utile per favorire la formazione di serotonina è la Vitamina B6 (importante coenzima per i neurotrasmettitori inclusa la serotonina).

Secondo Lansberg la prescrizione di una dieta di prova di 7-10 giorni può essere utile per valutare l'efficacia di un cambiamento di regime alimentare nella terapia della patologia comportamentale soprattutto su base aggressiva. Può essere utilizzata una dieta casalinga costituita da un tipo di proteina di alto valore biologico e un carboidrato (con un rapporto tra proteine e carboidrati di 1 a 4) o può essere utilizzata una dieta commerciale a basso contenuto proteico (ad esempio le diete specifiche per l'insufficienza renale a bassa percentuale proteica, 16%). Qualora il cambio di alimentazione dia risultati rilevanti a livello comportamentale, la dieta dovrà essere correttamente bilanciata e integrata e si dovrà valutare se gli effetti positivi sono stati indotti dal tipo di proteina utilizzata (che può provocare una riduzione di possibili effetti indotti da intolleranza alimentare sulla salute del cane con possibili effetti sul comportamento) o dalla riduzione della percentuale proteica.

Horwitz e Mills consigliano la somministrazione di una dose di carboidrati da 30 minuti a 3 ore dopo il pasto contenente proteine, ciò determina un notevole incremento nella liberazione di insulina facilitando il passaggio dell'L-triptofano attraverso la barriera emato-encefalica.

L'assunzione di L-triptofano non è tuttavia priva di effetti collaterali di una certa gravità per il cane, quali eosinofilia e mialgia seguita da miopatia e neuropatia, fibrosi e pancreatite atrofica. Nell'uomo è utilizzato anche il 5-HTP, che subisce un rapido assorbimento intestinale e un veloce attraversamento della barriera emato-encefalica. Questo metabolita non provoca nella nostra specie effetti collaterali di grande entità, a differenza di ciò che avviene nel cane in cui è responsabile della comparsa di importanti sintomi clinici, prevalentemente di tipo neurologico e gastroenterico (crisi convulsive, depressione, tremori, iperestesia, atassia, vomito, diarrea, dolore addominale, ipersalivazione, ipertermia e cecità transitoria), con esiti a volte mortali.