

Indicadores de bienestar en bovinos del trópico: una visión desde el estrés y el eje hipotalámico-pituitario-adrenal

Sierra, C.A.

Docente de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Santander,
Campus Valledupar, Colombia. E-mail: ca.sierra@mail.udesa.edu.co

Resumen

Sierra, C.A.: *Indicadores de bienestar en bovinos del trópico: una visión desde el estrés y el eje hipotalámico-pituitario-adrenal*. Rev. Vet. 30: 2, XX-XX, 2019. La presente revisión bibliográfica tuvo como objetivo recopilar información relevante sobre la activación del eje hipotálamo-pituitario-adrenal durante períodos de estrés en ganado bovino y su impacto en la producción, mediante distintas mediciones consignadas en la literatura. Ello incluyó biomarcadores sanguíneos y comportamentales, como el cortisol que a pesar de su variabilidad y corta vida media, aún conserva bastante validez. La metodología utilizada incluyó la revisión de diversas fuentes y bases de datos en idioma inglés y español, que van desde *Scielo*, *Pubmed*, *Google Académico* y otras como *Epsco* y *Sci Verse*. Los criterios fueron determinados por las palabras claves que hayan contenido estrés térmico en bovinos y su impacto en la producción a nivel de los trópicos, además de su relación con el bienestar animal.

Palabras clave: bovino, eje hipotálamo-pituitario-adrenal, marcadores de estrés.

Abstract

Sierra, C.A.: *Indicators of well-being in tropical bovine: a vision from stress and the hypothalamus-pituitary-adrenal axis*. Rev. Vet. 30: 2, XX-XX, 2019. Aim of this review was to gather relevant information about the activation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis during stress periods in cattle, and its impact on production through different measures available in the literature. This includes blood and behavior biomarkers, such as cortisol, which despite its short life is still quite valid. Methodology included the review of several sources and english and spanish database such as *Scielo*, *Pubmed*, *Google Academic* and others (*Epsco* and *Sci Verse*). Selection criteria included key words that contained thermal stress in bovines and its impact on production in tropical regions, as well as its relationship with animal welfare.

Key words: bovine, hypothalamus-pituitary-adrenal axis, stress markers.

Recibido: julio 2018 / Aceptado: setiembre 2018

Introducción

El bienestar animal sin duda representa uno de los elementos más importantes para poder alcanzar indicadores óptimos en la actual producción animal. Las determinaciones realizadas en la actualidad respecto a los indicadores de bienestar animal varían ampliamente, y dicha variación no solo está determinada por la especie animal, sino que

además depende grandemente de otros factores que incluyen diferencias entre individuos de una misma especie o incluso raza.

Considerando la actual relevancia del bienestar animal en la producción bovina, así como el creciente cuerpo de literatura del cual se dispone, surge la necesidad de realizar una revisión de los descubrimientos recientes, que permitan establecer los elementos más importantes de este factor, de una manera objetiva.

Es bien sabido que el estrés es una respuesta fisiológica que se genera ante la posible amenaza de la homeostasis en un ser vivo^{1, 3}. Tener en cuenta este factor nos permitirá establecer el primer paso para determinar de manera objetiva, los niveles de bienestar que incidirán en la explotación bovina.

El estrés

La definición de estrés parte de conceptos establecidos durante el siglo XIX por Claude Bernard, fisiólogo francés, que lo describió como una alteración de lo que él denominó como el *medio interno*. Años después, Cannon amplificó tal mecanismo, acuñando el término *homeostasis* para explicar el dispositivo que da lugar a un equilibrio dinámico y constante. Este vocablo hace alusión a los mecanismos específicos que actúan en conjunto orquestando una constante armonía del organismo.

Posteriormente, Selye elucidó otros fenómenos relacionados a la *respuesta de lucha o huida*, incrementando los conocimientos de las acciones llevadas a cabo por el organismo ante una amenaza. Esta expansión derivaría al descubrimiento del síndrome general de adaptación (*estrés*).

Mas adentrados en el presente siglo, aparecen definiciones como las de McEwan y Goldstein, donde se establecen los conceptos del equilibrio dinámico y constante, así como los mecanismos generadores de variaciones individuales y ambientales^{1, 3, 4}. Tales cambios demuestran lo intrincado que puede ser definir el estrés en los mamíferos, que al ser un fenómeno complejo desborda ampliamente la definición clásica de la *lucha o huida*.

Los elementos que contribuyen al desarrollo de una respuesta al estrés se clasifican en físicos o psicológicos y ejercen sus efectos en función del tiempo. Mediante una gran cantidad de estudios se ha determinado que el estrés, tanto agudo como crónico, ejerce efectos diferenciales en el organismo y en algunos casos distan en cuanto a su capacidad de afectar la homeostasis.

Por medio de distintos hallazgos se ha propuesto que el estrés agudo podría intervenir generando impulsos neurológicos más efectivos y respuestas más eficientes, en algunos casos a nivel motor, pudiendo influir en la consolidación de memoria a largo plazo e interferir en ocasiones de manera negativa sobre actividades cognitivas.

Por otro lado, el estrés crónico genera efectos relativamente más marcados, que se extienden de forma importante, siendo en su mayoría considerados como deletéreos. De esta manera vemos como modelos animales –por ejemplo roedores en condiciones de laboratorio, sometidos de manera crónica a estrés en diferentes edades– han demostrado efectos negativos de manera repetitiva, los cuales se extienden más allá del tiempo en el cual ocurrió su origen.

Para el caso de la cría bovina, es importante recalcar el hecho de que esta explotación ha tenido notables respuestas de adaptación, pero los indicios más recientes con-

firman que el estrés aún es un factor a evitar por sus efectos negativos en la producción y bienestar animal³.

El eje HPA

El eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) es un componente fundamental en la generación y señalización del estrés (Figura 1). Es bien sabido que la actividad reportada para dicho eje está implícita en funciones metabólicas, movilización de la energía y activación de reacciones ante las posibles amenazas que enfrenta el animal en su medio ambiente. Anatómicamente, las estructuras involucradas en la respuesta moduladora del estrés, se encuentran en el sistema nervioso central y los tejidos periféricos².

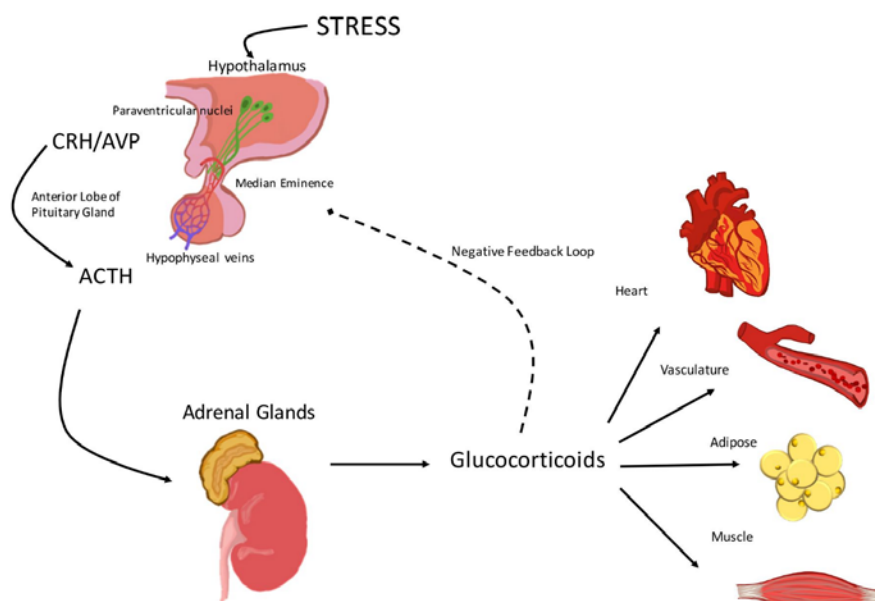


Figura 1. Activación del eje HPA y algunos de sus efectores. *Modificado de Burford².*

Los principales efectores se encuentran ubicados en el núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV), también en el lóbulo anterior de la glándula pituitaria y en las glándulas suprarrenales. En respuesta ante cualquier estímulo que amenace la homeostasis, se genera la emisión de hormona liberadora de corticotropina en las neuronas parvocelulares del NPV, hormona que se une a sus receptores en las células corticotropas de la pituitaria anterior generando liberación de hormona adrenocorticotropina (ACTH).

Esta hormona irrumpe en la circulación sistémica alcanzando de este modo su principal objetivo, la corteza adrenal. Una vez que se une a la población celular de la zona fasciculada de la corteza, se genera la producción de glucocorticoides, los cuales son los efectores finales del eje HPA, contando para ello con receptores intracelulares distribuidos de manera ubicua^{2,3}.

Así, surge que la actividad relacionada con la activación del eje HPA es fisiológicamente adaptativa, siendo los glucocorticoides endógenos sus efectores directos. Por

otro lado un gran número de estudios reportan efectos diversos sobre los pulsos de activación aguda y crónica para dicho eje, abarcando un espectro que va desde los impactos deletéreos hasta posibles efectos positivos, dependiendo de la actividad y del tiempo de dicha activación.

Uno de los indicadores más usados en la cría animal está vinculado con la producción de la explotación y el rendimiento de los animales. Si bien es cierto que este indicador no está relacionado de una manera directa con niveles de cortisol, cuya acción fisiológica es la de ser el efector final en la activación del eje HPA, se puede valorar como un parámetro que sugiere referencias sobre el bienestar de los animales.

Otro sistema importante en cuanto a la activación de la respuesta del bovino al estrés, incluye -como en la mayoría de los mamíferos- el sistema simpato-adreno-medular (SAM), una vía de liberación de catecolaminas como adrenalina, noradrenalina y dopamina en menor medida, que permiten realizar rápidos ajustes metabólicos en la respuesta de adaptación aguda al estrés. A su vez, norepinefrina y epinefrina son dos neurotransmisores de catecolamina liberados por el eje SAM, que ejercen efectos a través de los receptores adrenérgicos α y β , principalmente receptores adrenérgicos β_2 .

Esta interacción influye en una amplia variedad de sistemas corporales, aumentando la actividad cardíaca, la presión arterial y la frecuencia respiratoria, así como disminuyendo la motilidad del tracto gastrointestinal. Estos cambios fisiológicos integrados son parte de la respuesta de "lucha o huida" que se detecta luego de la emisión de factores estresantes agudos. A nivel celular, los receptores β -adrenérgicos actúan a través de las proteínas "G" catalizando la síntesis de AMPc para activar la proteín-cinasa "A" dependiente de AMPc y los factores de transcripción implicados en la regulación de la expresión génica.

Frecuentemente se considera al cortisol como la segunda línea de defensa, al reducirse la actividad del sistema inmunológico primario. Tal supresión es una importante regulación que evita la activación excesiva y crónica del sistema inflamatorio, lo cual podría generar consecuencias contraproducentes en el animal. De manera específica el cortisol reduce la liberación de citoquinas por parte de las células del sistema inmune, lo que se traduciría en vulnerabilidad a las enfermedades sistémicas.

Sin embargo la exposición crónica a altas concentraciones de cortisol conlleva a una constelación variable de efectos fisiológicos y psicológicos, como un catabolismo proteico elevado, hiperglicemia, depresión e inmunosupresión. En ganado doméstico la concentración excesiva de cortisol ha sido vinculada a tasas reducidas de reproducción, retraso en el crecimiento, supresión de la producción de leche y fallas del sistema inmunológico que incrementan la vulnerabilidad a la enfermedad. El ganado se ve afectado de manera diferencial dependiendo del tipo de producción al cual está sometido, lo cual puede perturbar directamente parámetros productivos y reproductivos.

Por otra parte, la relevancia del impacto económico asociado a la generación de estrés en la explotación bovina, es importante debido a la cantidad de dinero perdido, lo

cual involucra quebrantos de diversas actividades productivas. En Colombia no se conocen estudios donde se haya efectuado una aproximación a las cifras relacionadas con las pérdidas económicas derivadas del estrés en la industria bovina, sin embargo es muy probable que el comportamiento de este factor sea semejante al de la tendencia mundial.

Estrés térmico

Una de las causas más importantes que aquejan a la cría bovina está relacionada directamente con los efectos del cambio climático, consecuencia de la intensa actividad humana sobre el planeta en el último siglo. De este modo el estrés térmico se considera como el más desfavorable, teniendo presente el impacto que genera sobre la producción y reproducción en animales domésticos, acusando una pérdida mayor en aquellos individuos con genética especializada.

Algunas especies desarrollan adaptaciones fisiológicas importantes, como en el caso del ganado cebú, *Bos indicus*, el cual -a diferencia del *Bos taurus*- ostenta una carga genética que le confiere la capacidad de adaptación a condiciones climáticas cuando la temperatura es elevada. Estas propiedades se han verificado a nivel morfológico, fisiológico y celular. De esta manera, tales animales se están utilizando en amplia escala con el fin de mejorar las características reproductivas y adaptabilidad de razas que pueblan el trópico ⁷.

En esta revisión se ha querido hacer hincapié en los efectos negativos del estrés, especialmente en los sucesos que permitan esclarecer el perjuicio ocasionado por el estrés térmico. Se sabe por diferentes estudios el impacto que ocasiona la reactividad permanente del eje HPA en cuanto al estrés crónico generado en animales con poca adaptación a lo trópicos. Dicha respuesta usualmente se ve acompañada de la liberación de catecolaminas, generando alteraciones metabólicas importantes en individuos con baja capacidad adaptativa.

De esta manera, animales con mayor carga genética de *Bos indicus* y bovinos taurinos o mestizos bien ambientados, se verán favorecidos en cuanto a su capacidad adaptativa. Además, se ha determinado que el calor influye de una forma negativa en la reproducción, aunque -como es válido aclarar- dichos efectos son más visibles en razas muy especializadas de origen europeo ¹³.

Otro factor que interviene de manera importante en un ambiente tropical, es la alta incidencia de enfermedades parasitarias e infecciosas, lo cual torna muy complejo tener que garantizar estándares mínimos de producción animal y bienestar. De esta manera una conclusión apresurada o plausible dentro de la industria, constituiría el mejoramiento por selección genética de individuos previamente adaptados al trópico en aras de mejorar sus estándares productivos con el fin de potenciar la producción en estas cálidas latitudes ⁶.

Estrés por transporte

El transporte es uno de los *estresores* más frecuentes en la explotación bovina mundial. Desde hace unos 50 años, estudios epidemiológicos han sostenido que este factor está relacionado con la presentación de enfermedad respiratoria bovina. El transporte implica una liberación transitoria de cortisol con las consecuencias mencionadas anteriormente. Tal liberación hormonal está incluso asociada a otros factores relacionados con el transporte, como la interacción humana.

La cortisolemia usualmente se asocia a desviaciones de los niveles de concentración de glóbulos blancos, especialmente una fuerte tendencia al intercambio entre los porcentajes de neutrófilos y linfocitos. Recientemente se ha descrito que una medida más objetiva estaría vinculada al recuento de células *Nk* (*natural killer*), las cuales están relacionadas directamente con la inmunidad celular.

En naciones como Colombia, es común realizar grandes travesías donde se mueven rebaños abundantes, y donde además se efectúan viajes en vehículos que parecen no estar siempre en las mejores condiciones. El hacinamiento y las condiciones poco favorables en el transporte, muestran que pueden ocurrir exposiciones a altas temperaturas, tendencia a traumas físicos, acumulación de amoníaco y alcalosis, además de deshidratación y alteración de la homeostasis energética^{2,3}.

Estrés por privación de alimento

La privación de alimentos puede ocurrir en varias situaciones, tanto por la carencia de micronutrientes específicos, así como por la ingesta inadecuada de proteínas. La deficiencia constante en animales jóvenes ha demostrado ser funesta para las funciones del sistema inmune, con disminución de la función linfocitaria y la capacidad de respuesta y generación de anticuerpos.

La deficiencia alimentaria y sus efectos en el rumen también han demostrado ser importantes aún en condiciones controladas. Animales con nula ingesta han sido asociados con concentraciones elevadas de cortisol y ácido butírico. Treinta y dos horas después de haberse generado la suspensión de alimentos, se observa un incremento en el pH ruminal, lo cual promueve alteraciones de la microbiota en tal recinto.

Estrés psicológicos

Los más comunes devienen son la separación materna y el destete. La separación materna ha sido identificada como un agente importante en la generación de alteraciones genotípicas a largo plazo en animales de experimentación y seres humanos. Se han determinado los efectos de la separación materna abrupta en terneros de 5 a 6 meses de edad con cambios relacionados a nivel comportamental, como el incremento en la vocalización y la deambulación tanto en las madres como en las crías.

Se ha descrito además que los niveles de las hormonas responsables del estrés, como adrenalina y cortisol, decrecen de manera importante después de reunir a los terneros con sus madres. En estudios relacionados con la separación materna en roedores recién nacidos, se ha demostrado que el efecto de la ausencia materna tiene un impacto importante en las crías, llegando a generar alteraciones de largo plazo a nivel cognitivo y metabólico.

Tales estudios no se han encontrado en bovinos de edades inferiores, por lo cual sería interesante explorar la posibilidad de realizar investigaciones a ese nivel, para evaluar efectos de la separación materna a largo plazo en ganado bovino¹².

En cuanto al destete, se han realizado estudios relacionados con la edad en la cual se lo llevó a cabo. De esta forma se comprobó una relación inversa entre la edad del destete y las posibilidades de generar alteraciones inmunológicas comprometedoras.

Una investigación de desafío inmunológico en terneros de diferentes edades corroboró el hecho de que niveles de citocinas como IL1, IL6 y TNF α , se encontraron disminuidos en terneros destetados a los 80 días, comparados con animales destetados a los 254 días¹⁵. Esta investigación revela los efectos importantes que puede tener el destete en la activación del eje HPA y la microbiota intestinal, en animales jóvenes.

Estrés por aislamiento social

El ganado se reconoce por formar grupos de orden y jerarquía social, con animales dominantes y sumisos dentro de cada grupo. De acuerdo a ello, el aislamiento social y la introducción a un nuevo grupo pueden inducir estrés.

Se ha postulado que el aislamiento social puede afectar de manera significativa la producción de cortisol a nivel salival y la reactividad de la *cromogramina A* (marcador tisular de tumores neuroendocrinos). Esta última se encontró notablemente elevada, aunque los niveles de cortisol estuvieron dentro de rangos normales durante el estudio.

Tal investigación indicó que en bovinos es posible que el aislamiento social y la introducción a nuevos grupos no afecten el eje HPA, aunque parecen ejercer un aumento significativo de la actividad del sistema SAM⁹.

Efecto de personas u objetos novedosos

La introducción de nuevos objetos, animales y personas en determinados ambientes pueden operar como *estresores* al estar relacionados con el flujo de movimiento dependiente de la explotación que se esté desarrollando.

Biomarcadores de estrés

En la actualidad se dispone de parámetros de comportamientos (fisiológicos, bioquímicos, inmunológicos y patológicos), desarrollados para estudiar la capacidad de respuesta de los animales ante el estrés agudo.

Dentro de los biomarcadores descritos, los más sobresalientes son las mediciones de cortisol y progesterona, las concentraciones plasmáticas de albúmina, urea, globulinas, proteínas totales, B-hidroxibutirato (B-OHB), haptoglobina, fibrinógeno, volumen celular acumulado, recuento de leucocitos y actividad de creatinfosfoquinasa (CPK).

Investigadores reportan que las variables descritas previamente se usan como indicadores de estrés, efectuando una comparación entre la situación del biomarcador antes y después de la exposición correspondiente al *estresor*, independientemente de la naturaleza del mismo.

Cortisol

El cortisol es una hormona considerada como indicadora neuroendocrina primaria y -pese a su poca estabilidad y alta variabilidad- constituye la más utilizada. Su concentración varía entre los niveles fisiológicos basales y los cambios observados en su concentración tisular después de la exposición ante el *estresor* correspondiente. La variabilidad mostrada ante agentes agudos y repetitivos suele estar relacionada con respuestas *maladaptativas*, en el caso de existir una falla que impida reestablecer la homeostasis o luego de un estímulo crónico.

Las concentraciones de cortisol plasmático se incrementan luego de que los animales fueron expuestos a condiciones adversas como el aislamiento, la restricción de movimiento, el reagrupamiento, las pobres condiciones de traslado y el transporte intermitente. En los bovinos los niveles plasmáticos de cortisol basal se encuentran por debajo de 10 ng/ml, pero se ha descrito que fluctúan en un rango entre 0 y 20 ng/ml.

La interpretación de los niveles basales de cortisol se dificulta porque depende de múltiples factores, incluyendo el ritmo circadiano (concentraciones aumentadas en la mañana y bajas en la tarde), aunque estudios recientes indican que el ritmo circadiano

en bovinos es débil. Otros factores son el muestreo, la restricción de movimiento, la lactancia, el coito, el ordeño, el grado de habituación, endotoxinas, infecciones y ciertas hormonas (p.ej. vasopresina, que puede potenciar la secreción de ACTH).

Se ha determinado que el ganado muestra bajos niveles de cortisol después de la exposición repetida a un factor estresante, y esta habituación depende del tipo de *estresor*, su intensidad, la duración y las experiencias previas individuales; por esta razón, no todos los individuos responden de la misma forma ante cambios ambientales¹⁴.

Teniendo en cuenta estas dificultades, en especial cuando el análisis de cortisol se realiza en sangre, se han propuesto diferentes muestras biológicas para su análisis como heces, orina y saliva; sin embargo, su interpretación se puede dificultar porque los niveles de cortisol en estos fluidos pueden ser más bajos que en sangre (p.ej. cerca de 10 veces menos en saliva). La hormona puede ser conjugada antes de la excreción (por orina o heces), o puede ser transformada por bacterias en el intestino.

Sin embargo, se ha considerado promisorio la evaluación de cortisol en heces fecales, acompañada de otros biomarcadores fisiológicos y de comportamiento, porque proporciona una medición de la producción de hormona durante un período de tiempo prolongado.

La medición certera del cortisol es dependiente del tiempo porque *in situ* requiere entre 10 y 20 minutos para alcanzar valores máximos y tiene una vida media de 60 minutos, eliminándose principalmente por el hígado.

Se ha sugerido que las manifestaciones conductuales de los animales ante un agente *estresor* están íntimamente asociadas con el incremento de cortisol, debido a que sus receptores se encuentran localizados en regiones específicamente involucradas con la regulación hormonal (hipotálamo e hipófisis) y particularmente con el sistema límbico, que juega un papel relevante en las conductas emocionales.

Así, las concentraciones plasmáticas de cortisol, junto a las mediciones de glucosa y CPK, han sido usadas como confiables indicadores de estrés físico agudo y estrés emocional; este último, causado por el ruido durante la carga y descarga, la vibración del vehículo durante el transporte del ganado y los cambios en la estructura social¹⁷.

Debido a la alta variabilidad de los niveles plasmáticos de cortisol, no se recomendaría hacer comparaciones absolutas entre los diferentes estudios que evalúan las condiciones de estrés previas al sacrificio de bovinos de abasto público, requiriéndose para tal efecto, la medición de los niveles basales para realizar comparaciones antes y después del evento a evaluar (transporte, estadía en planta y sacrificio, entre otros).

Hematocrito

También llamado *volumen globular acumulado* (VGA), es el porcentaje del volumen sanguíneo ocupado por células, principalmente eritrocitos. El excedente está conformado por fluido y la diferencia permite obtener una aproximación del volumen plasmático.

El VGA permite evaluar la alteración de electrolitos y fluidos, siendo considerado como un indicador moderadamente bueno de estrés. El transporte, el ayuno y la baja ingesta de agua producen un aumento del VGA, teniendo en cuenta que el valor promedio para bovinos es de aproximadamente 38%.

La principal función del bazo de los mamíferos es almacenar glóbulos rojos, los cuales son fácilmente liberados en respuesta a una excitación o factor estresante. El aumento de VGA durante el ayuno se puede deber al movimiento de fluidos fuera del

compartimiento vascular y a la contracción esplénica durante el estrés, inducida por la actividad nerviosa simpática o por catecolaminas circulantes.

Se han descrito como valiosas las determinaciones plasmáticas de proteínas totales y albúmina en relación con el VGA, cuando se desean evaluar los niveles de hidratación. Se supone que la cantidad de proteínas totales presentes en el plasma sigue siendo la misma, por lo tanto, proteínas totales y albúmina, deben mostrar el mismo tipo de cambio, si éste se debe a la deshidratación y no a un efecto de la dieta.

Se ha reportado también que cuando el estrés es crónico, el VGA puede estar disminuido. Es necesario tener en cuenta que este parámetro puede aumentar durante la sangría por contracción esplénica, debido a la acción de las catecolaminas secretadas en ese momento.

Indicadores de ayuno

La disminución del peso vivo, del B-hidroxibutirato (B-OHB), de los ácidos grasos libres y del glucógeno muscular son indicadores de ayuno. Una vez que el bovino es privado de alimento y agua, recurre a sus reservas de energía, que se encuentran principalmente en forma de lípidos, especialmente triglicéridos (triacilglicerol), a partir de los cuales se obtienen glicerol y ácidos grasos libres o no-esterificados; estos últimos son transportados por la sangre unidos a proteínas.

Los triglicéridos son sintetizados principalmente en el hígado, tejido adiposo e intestino delgado. Si la cantidad de grasa movilizada excede la capacidad de oxidación del hígado, se produce un incremento de los cuerpos cetónicos como el B-OHB, la acetona y el acetato, productos del metabolismo energético de los bovinos. Los cuerpos cetónicos funcionan como sustitutos energéticos, aportando un 60-80% de la energía de la dieta de los rumiantes.

Durante el ejercicio, la glucosa, los cuerpos cetónicos y los ácidos grasos libres son usados totalmente. Después de este proceso, la oxidación de cetona muscular se reduce y aumentan los niveles de ácidos grasos libres y B-OHB hasta seis veces por encima de los valores previos al ejercicio. Sin embargo, minutos inmediatamente después del ejercicio intenso, estos valores pueden disminuir momentáneamente por un ajuste metabólico.

Los valores promedios de la concentración de B-OHB en sangre bovina son de 0,02 a 0,46 mmol/l. Cuando estos niveles basales aumentan, los bovinos tardan entre uno a dos días para alcanzar nuevamente su valor normal. El B-OHB no es un buen indicador de estrés agudo. Asimismo, se ha indicado que durante las primeras 24 h de transporte, el B-OHB puede disminuir debido a la utilización del *pool* circulante aportado por el rumen.

Las concentraciones plasmáticas de este cuerpo cetónico se pueden ver afectadas por la variabilidad animal y la alimentación previa recibida por los bovinos antes del sacrificio, motivo por el cual se pueden encontrar valores contradictorios de este indicador en diferentes investigaciones¹⁵.

Glucosa

Debido a la acción de las catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) liberadas desde las glándulas adrenales hacia la circulación sanguínea durante la respuesta inicial al estrés, se elevan la frecuencia cardíaca y la presión arterial, estimulándose la gluco-

neogénesis hepática, lo cual incrementa la disponibilidad de glucosa plasmática (hiperglucemia) en minutos.

Este proceso también es producido por el cortisol y por hormonas específicas que participan en la regulación de la glucosa, como el glucagón y la insulina. Durante la respuesta al estrés los niveles de cortisol activan la glicólisis hepática y la gluconeogénesis, incrementando el catabolismo de las proteínas libres.

Por lo anterior, se admite que la concentración de glucosa es un buen indicador indirecto de estrés. La glucemia en bovinos fluctúa de 3,0 a 4,4 mmol/l. Se ha descrito, que cuando los bovinos son transportados bajo condiciones climáticas de baja temperatura, se puede presentar un incremento de la concentración plasmática de glucosa debido al frío y no a las condiciones de manejo previas al sacrificio .

Creatínfosfoquinasa

Esta enzima muscular cataliza la reacción para obtener adenosintrifosfato (ATP) a partir del adenosindifosfato (ADP) más el fosfato de creatinina en la mitocondria. El transporte prolongado es un factor extenuante; los bovinos tienen que mantener el balance fisiológico ante la fatiga y contusiones propias del contacto entre ellos, las lesiones ocasionales y la fatiga, que afectan la permeabilidad de la membrana celular con liberación de creatínfosfoquinasa (CPK) hacia el torrente sanguíneo.

De igual forma, los niveles basales de CPK pueden aumentar debido al ayuno y al ejercicio, siendo mayor el incremento durante la insensibilización y sangría. La enzima es ampliamente evaluada porque es órgano-específica, es decir, permite identificar el tejido que la está produciendo, debido a que presenta cuatro isoformas diferentes (muscular, cardíaca, cerebral y mitocondrial). El valor de referencia de CPK para el bovino (versátil según técnica utilizada) es de 35-280 U/l.

Lactato

Independientemente del tiempo de transporte y de permanencia en la planta de sacrificio, el lactato es considerado un indicador de estrés, relacionado con las condiciones de manejo de los animales, principalmente por el ejercicio físico. Una vez que el músculo esquelético entra en estado de hipoxia durante el ejercicio o la fatiga, se activa la vía anaerobia de la glicólisis, interrumpiéndose la entrada del piruvato al ciclo de Krebs para la obtención de ATP, formándose lactato o ácido láctico, saturándose el ciclo de Cori y produciendo ácidos de origen metabólico dentro de la fibra muscular, que son liberados desde las células musculares a la circulación sanguínea.

Por lo anterior, la concentración plasmática de lactato es utilizada como indicador de actividad física excesiva, agotamiento y daño muscular. Se ha demostrado que en bovinos tanto el manejo como el transporte pre-sacrificio, causan incrementos significativos en las concentraciones plasmáticas o séricas del lactato, siendo mayor su concentración durante la sangría, debido quizás, a aumentos en los niveles de catecolaminas.

Los valores promedios de lactato plasmático se encuentran en el rango de 0,6-2,2 mmol/l. El aumento del lactato es un indicador de estrés agudo, durante el cual su concentración se eleva debido a la liberación de catecolaminas, las cuales inducen una excesiva producción y rápida glicólisis. Generalmente, la concentración de lactato durante

el sacrificio no es un predictor de la aparición de carne de *corte oscuro* (carne firme, seca y oscura), porque esta condición de calidad es una consecuencia del estrés crónico ocurrido por el traslado desde el campo hasta la planta de faena.

Catecolaminas

Las catecolaminas son un grupo de sustancias que incluyen la adrenalina (epinefrina), noradrenalina (norepinefrina) y dopamina, las cuales son sintetizadas a partir del aminoácido tirosina. Su liberación se produce durante el estrés agudo de los bovinos, como resultado del miedo y la excitación⁸.

Las catecolaminas pueden ser producidas en la médula de la glándula adrenal para ejercer funciones hormonales, o en las terminaciones nerviosas, para operar como neurotransmisores. Durante situaciones de estrés, adrenalina y noradrenalina son liberadas rápidamente (uno o dos segundos después de la percepción del estímulo) y tienen una vida media corta (minutos) cuando circulan en la sangre.

La adrenalina generalmente refleja estrés fisiológico, mientras que la noradrenalina está relacionada con actividad física del ganado. Se ha establecido que estas dos hormonas tienen un valor limitado para evaluar el estrés producido por el sacrificio (insensibilización y sangría), porque durante la insensibilización eléctrica o con *perno cautivo*, los animales liberan de forma masiva estas sustancias, que pueden causar además la elevación de la concentración sanguínea de glucosa.

Urea

Los niveles de urea se incrementan como respuesta al estrés, el cual eleva el catabolismo proteico y los grupos amino desechados por este proceso son transformados en urea por el hepatocito, para ser eliminados posteriormente por filtración glomerular y excretados por orina. La disminución de la concentración plasmática de urea puede indicar privación de alimento.

Leucograma

Existe una estrecha relación entre el perfil de leucocitos y el nivel de glucocorticoides plasmáticos durante el estrés fisiológico¹⁶. Dichas hormonas pueden actuar incrementando el número de neutrófilos (neutrofilia), a la par de disminuir la cantidad de linfocitos (linfopenia)¹⁸.

Teniendo en cuenta que la concentración de leucocitos es afectada por el estrés en direcciones opuestas, los investigadores usan la relación neutrófilos/linfocitos como una medida complementaria de la respuesta al estrés, relacionando la magnitud del *estresor* con la concentración de glucocorticoides circulantes¹¹.

Los neutrófilos son fagocitos primarios que proliferan en la circulación como respuesta a infecciones, inflamaciones y estrés. Por su parte, los linfocitos tienen una variedad de funciones inmunológicas, como la producción de inmunoglobulinas y la modulación de la respuesta inmune⁵. La proporción de cada tipo de células blancas (neutrófilos, basófilos, linfocitos, monocitos y eosinófilos), usualmente obtenida al observar al microscopio los extendidos de sangre teñidos, es lo que se denomina "perfil de leucocitos" o "leucograma".

Como respuesta al incremento de los glucocorticoides durante el estrés, los linfocitos circulantes se adhieren a las células endoteliales que cubren las paredes de los vasos sanguíneos y, posteriormente, pasan de la circulación hacia tejidos como los ganglios linfáticos, médula ósea, bazo y piel, donde son secuestrados, produciendo por lo tanto una reducción del número de linfocitos circulantes (linfopenia).

Asimismo, los glucocorticoides estimulan el flujo de neutrófilos desde la médula ósea hacia la sangre y atenúan el paso de éstos hacia otros compartimentos, generando neutrofilia, o sea el incremento de los neutrófilos maduros e inmaduros en la circulación sanguínea. Estos cambios aseguran que los diferentes tipos de células sean dirigidas a los tejidos donde se requieran durante el estrés. El transporte, además, aumentaría los niveles de adrenalina, con el consiguiente aumento de los leucocitos.

Estrés y calidad de la carne

El manejo de los bovinos durante el pre-sacrificio les provoca estrés, que conlleva a cambios metabólicos y hormonales en el animal vivo, descritos previamente, produciendo efectos adversos en la calidad de la carne, específicamente en el pH, color, textura y la capacidad de retención de agua.

Así mismo, pueden causar disminuciones de peso, que se traducen en menor cantidad de carne producida y lesiones como hematomas de diverso grado, que implican recortes y disminución de precio o categoría de las canales.

Conclusiones

La evaluación del bienestar animal en bovinos del trópico, basada en biomarcadores de estrés, implica la interpretación de procesos de alta complejidad dados por la variabilidad en la respuesta a las condiciones cambiantes a nivel de la producción. Tales procesos generan alteraciones del medio interno y de la salud de los animales, lo cual adicionalmente se complica por el hecho de que la diversidad de respuestas depende de factores que los investigadores en ocasiones no pueden controlar, como la edad, dieta, nutrición y variabilidad individual, entre otros aspectos.

La complejidad de la biología del estrés requiere de estudios profundos que incluyan un gran número poblacional de bovinos y tomas de muestras en diferentes ambientes. Téngase en cuenta que esta revisión menciona de manera específica el estrés dentro del contexto del trópico.

Existe aún muy poca literatura que permita esclarecer de qué manera las variables aquí expuestas afectan de forma diferencial la producción. Tampoco se han realizado exploraciones profundas con la finalidad de entender con mayor claridad la respuesta fisiológica y endocrina de los bovinos sometidos a manejos estresantes como la carga, descarga, transporte, ayuno, insensibilización y sangría. Sería conveniente integrar indicadores comportamentales, con su correspondiente validación, y correlacionarlos con marcadores hemáticos y/o tisulares.

Dichos parámetros deberían confrontarse con variantes tales como número de animales que reposan o se paran, montas, cornadas, vocalizaciones (mugidos), defecación, caídas y otras interacciones¹⁴, que pueden generar respuestas distintas de los indicadores sanguíneos de estrés.

Teniendo en cuenta que el bienestar animal se ha convertido en un elemento diferenciador y un valor agregado en la comercialización de la carne bovina, la legislación

colombiana ha integrado este componente dentro de los requerimientos de las buenas prácticas de producción primaria y secundaria.

Por tal motivo, se hace necesario incentivar y fortalecer la introducción del bienestar animal en los currículos de los programas de medicina veterinaria y/o zootecnia, así como conformar líneas de investigación aplicadas en el área, y vincular las academias con la resolución de problemas de la industria ¹⁰.

Referencias

1. **Bernabucci U et al.** 2014. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *J Dairy Sci* 97: 471-486. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-6611>
2. **Burford N, Webster N, Cruz TD.** 2017. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis modulation of glucocorticoids in the cardiovascular system. *Int J Mol Sci* 18: 2150. <http://doi.org/10390/ijms18102150>
3. **Chen Y, Arsenault R, Napper S, Griebel P.** 2015. Models and methods to investigate acute stress responses in cattle. *animals*. *Animals* 5: 1268-1295. doi: 10.3390/ani5040411
4. **Curley K et al.** 2010. The effectiveness of vasopressin as an ACTH secretagogue in cattle differs with temperament. *Physiology & Behavior* 101: 699-704. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.08.009>
5. **Ganaie AH, Shanker G, Bumla NA, Ghasura RS, Mir NA.** 2013. Biochemical and physiological changes during thermal stress in bovines. *J Veterinar Sci Technol* 4: 26. doi:10.4172/2157-7579.1000126
6. **Hahn G.** 1997. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J Animal Sci* 77: 10. http://dx.doi.org/10.2527/1997.77suppl_210x
7. **Hansen P.** 2004. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Anim Reprod Sci* 82-83: 349-360. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4320\(04\)00066-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4320(04)00066-1)
8. **Mac Kay J, Haskell M, Deag J, Reenen K.** 2014. Fear responses to novelty in testing environments are related to day to day activity in the home environment in dairy cattle. *Applied Anim Behaviour Sci* 152: 7-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.applanim.2013.12.008>
9. **Meagher R, Keyserlingk M, Atkinson D, Weary D.** 2016. Inconsistency in dairy calves' responses to tests of fearfulness. *Applied Animal Behaviour Science* 185: 15-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.applanim.2016.10.007>
10. **Moya D, Schwartzkopf K, Veira D.** 2013. Standardization of a non-invasive methodology to measure cortisol in hair of beef cattle. *Livestock Science* 158: 1-3, 138-144. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2013.10.007>
11. **Nguyen T et al.** 2016. Genomics election for tolerance to heat stress in Australian dairy cattle. *J Dairy Sci* 99: 2849-2862. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9685>
12. **Reis LS, Pardo PE, Oba E, Kronka SN, Frazatti NM.** 2006. *Matricaria chamomilla* CHI 2 decreases handling stress in Nelore calves. *J Vet Sci* 7: 189-192. <http://doi.org/10.4142/jvs.2006.7.2.189>
13. **Schüller L, Burfeind O, Heuwieser W.** 2014. Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature humidity index thresholds periods relative to breeding, and heat load indices. *Theriogenology* 81: 1050-1057. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.01.029>

14. **Schüller L, Michaelis I, Heuwieser W.** 2017. Impact of heat stress on estrus expression and follicle size in estrus under field conditions in dairy cows. *Theriogenology* 102: 48-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.07.004>
15. **Sutherland MA, Dowling SK.** 2014. The relationship between responsiveness of first-lactation heifers to humans and the behavioral response to milking and milk production measures. *J Vet Behav*: 30-33. doi.org/10.1016/j.jveb.2013.09.001
16. **Van der Kolk J, Fouché N, Gross J, Gerber V, Bruckmaier R.** 2016. A comparison between equine and bovine hypothalamus-pituitary-adrenocortical axis. *Dom Anim Endocr* 56, 101-111. <http://dx.doi.org/10.1016/j.domaniend.2016.02.008>
17. **Van Reenen C et al.** 2013. Behavioural and physiological responses of heifer calves to acute stressors: long-term consistency and relationship with adult reactivity to milking. *Ap Anim Sci* 147: 55-68. <http://dx.doi.org/10.1016/j.applanim.2013.04.020>
18. **Wise M, Armstrong D, Huber J, Hunter R, Wiersma F.** 1988. Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress. *J Dairy Science* 71: 2480-2485. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(88\)79834-3](http://dx.doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(88)79834-3)