

03068

1  
2ej



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

Colegio de Ciencias y Humanidades  
Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado  
Centro de Neurobiología

CONTRIBUCION A LA METODOLOGIA  
PARA LA CARACTERIZACION DEL  
ESTRES EN BOVINOS

**T  
E  
S  
I  
S**

**T E S I S**

Que para optar al grado de:  
**MAESTRIA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

**P r e s e n t a**

**SARA DEL CARMEN CABALLERO CHACON**

MEXICO, D. F.

MAYO DE 1996

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Este trabajo fue realizado en el Departamento de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, bajo la supervisión del Dr. Héctor Sumano López y el Dr. Luis Ocampo Camberos .**

**El desarrollo de este trabajo se llevó a cabo con las aportaciones de la Dra. Imelda Omaña Zapata.**

**La parte experimental de la tesis se realizó en el Laboratorio de Endocrinología del Hospital de Cardiología bajo la supervisión del Biol. Guillermo Cardoso y la asesoría técnica de la Q.F.B. Martha Mejía.**

**El del desarrollo estadístico se llevó a cabo bajo la asesoría de la MC Graciela Tapia Pérez.**

**Para el desarrollo del capítulo de Etología se agradece:**

**El apoyo del M.V.Z. Gerardo Reza Subgerente del Centro de mejoramiento genético LICONSA la facilitación de instalaciones y animales.**

**Al Dr. Ricardo Mondragón, Jefe del Departamento de Etología del Instituto Nacional de Psiquiatría, por sus comentarios iniciales sobre etología .**

**Las aportaciones y apoyo del Dr. Francisco Galindo Maldonado, Jefe del Depto. de Etología, Fauna Silvestre y Animales de Laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.**

**Agradecimiento especial.**

**A la Doctora Sofía Díaz de Cintra, Jefa del Proyecto de Maestría y Doctorado en Ciencias Fisiológicas UACPYP, por todo el entusiasmo y apoyo moral brindados desde el inicio y durante todo este tiempo para la conclusión de este trabajo.**

**Dedicatoria**

**Para tí Daniela.**

**A mis padres.**

**A mis sinodales.**

**A todos mis amigos.**

**En especial a los animales.**

## INDICE

<b>1</b>	<b>Introducción</b>	
1.1	¿Por qué estudiar el estrés en medicina veterinaria?	1
1.2	Definición de estrés	3
1.2.1	El concepto de estrés de Selye	3
1.3	Fisiología y endocrinología del estrés	10
1.4	El concepto de estrés social	15
1.5	Estrés y sistema inmune	21
1.5.1	Función de los glucocorticoides sobre el sistema inmune Enfoque bidireccional	25
1.5.2	Comunicación entre el sistema nervioso y el sistema inmune	27
1.6	Etología y estrés en los bovinos	29
1.7	Cuantificación del estrés en los bovinos	
1.7.1	Hormonas	32
1.7.1.1	Corticosteroides	32
1.7.1.2	Catecolaminas	34
1.7.2	Neuropéptidos	38
1.7.3	Respuesta inmune	38
1.7.4	Conducta	39
1.7.5	Proteínas del estrés	40
<b>2</b>	<b>Planteamiento de hipótesis general</b>	<b>42</b>
2.1	Objetivos	42
2.2	Determinación de las concentraciones basales de ácido vanilmandélico en orina de bovinos Holstein en producción	
2.2.1	Hipótesis	44
2.2.2	Objetivo	44
2.2.3	Material y métodos	44
2.2.4	Análisis Estadístico	45
2.2.5	Resultados	46

2.2.6	Discusión	51
<b>2.3</b>	<b>Obtención de las concentraciones basales de ácido vanilmandélico en orina de bovinos F1 (Holstein/Cebú)</b>	
2.3.1	Hipótesis	53
2.3.2	Objetivo	53
2.3.3	Material y métodos	53
2.3.4	Análisis Estadístico	53
2.3.5	Resultados	54
2.3.6	Discusión	54
<b>2.4</b>	<b>Determinación de los valores de ácido vanilmandélico en orina de bovinos F1 (Holstein/Cebú) y Holstein, expuestos a estrés mediante dos métodos de sacrificio: puntilla y pistola de perno cautivo</b>	
2.4.1	Hipótesis	58
2.4.2	Objetivo	58
2.4.3	Material y métodos	58
2.4.4	Análisis Estadístico	59
2.4.5	Resultados	59
2.4.6	Discusión	63
<b>2.5</b>	<b>Determinación de la correlación entre las concentraciones de ácido vanilmandélico urinario y los patrones de comportamiento interactivo en dos grupos de bovinos Holstein expuestos a estrés social.</b>	
2.5.1	Hipótesis	64
2.5.2	Objetivo	64
2.5.3	Material y métodos	64
	a) Ubicación y sujetos	64
	b) Procedimiento de observación	65
	c) Conducta	65
	d) Cálculo de índices interactivos	68
2.5.4	Análisis estadístico	68

2.5.5 Resultados	69
2.5.6 Discusión	82
<b>3 Discusión General</b>	<b>85</b>
<b>4 Conclusiones</b>	<b>93</b>
<b>5 Referencias</b>	<b>94</b>

## RESUMEN

Sara del Carmen Caballero Chacón. **CONTRIBUCIÓN A LA METODOLOGÍA PARA LA CARACTERIZACIÓN DEL ESTRÉS EN BOVINOS.** (Tutor: MVZ Ph.D. Héctor Sumano López; Miembros del Comité Tutorial :MVZ MsC. Luis Ocampo Camberos; MVZ.MsC. Graciela Tapia Pérez; MVZ Ph.D. Francisco Galindo Maldonado y MVZ MsC. Arturo Olguín y Bernal).

Dada la importancia de caracterizar el estrés en medicina veterinaria se consideró la hipótesis de utilizar las concentraciones urinarias de ácido vanilmandélico (AVM) como indicador orgánico de estrés relacionándolo con la conducta en bovinos. Se determinaron las concentraciones de AVM urinario en bovinos Holstein y F1 (Holstein/Cebú), posteriormente bajo condiciones de estrés agudo y social. Se encontró que existen valores variables de las concentraciones de AVM urinario en las diferentes razas de bovinos que fluctaban entre 4.52 a 9.58 mg de AVM gr de Creatinina para bovinos Holstein y 1.17 y 2.12 mg de AVM/gr de Creatinina para bovinos F1 (Holstein/Cebú). Se determinó que los bovinos F1 (Holstein/Cebú) tenían mayor capacidad de producir AVM durante el estrés agudo y que no existe correlación entre las concentraciones urinarias de AVM y los cambios de conducta durante el estrés social en bovinos Holstein. Sin embargo, si hubo una correlación entre el aumento de las concentraciones de AVM urinario y la pérdida de peso. Al igual que muchos otros indicadores de estrés (cortisol, catecolaminas, etc.), es perceptible que las concentraciones de AVM urinario aumentan en ciertas situaciones de estrés agudo pero que la relación con el estrés social no fue evidente. De cualquier forma este estudio sugiere que es posible determinar que el animal ha sufrido estrés agudo si sus concentraciones de AVM rebasan los valores basales.

## SUMMARY

Sara del Carmen Caballero Chacón. CONTRIBUTION TO THE METHODOLOGY TO CHARACTERIZE THE STRESS IN BOVINE. (Tutor: MVZ PhD. Héctor Sumano López; Tutorial Committee: MVZ MsC. Luis Ocampo Camberos; MVZ.MsC. Graciela Tapia Pérez; MVZ PhD. Francisco Galindo Maldonado y MVZ MsC. Arturo Olgún y Bernal).

Considering the need to characterize stress in veterinary medicine, in particular in bovines, the hypothesis of evaluating changes in the urinary concentrations of vanilmandelic acid (VMA) during stress was advanced. Basal urinary concentrations of VMA were determined. Also VMA concentrations were determined during acute and social stress. Results show that well defined basal values can be seen in bovines, ranging from 4.52 to 9.58 mg VMA/gr Creatinine in Holstein cattle and from 1.17 to 2.12, in Holstein/Zebu F3 cattle. It was also observed that HolstienZebu cattle showed grater ability to increase VMA urinary concentrations during acute stress and that no correlation could be found between VMA and behavioral changes during social interactions in Holstein cattle. However a good correlation (0.99) was detected between loss in body weight and VMA urinary concentrations. VMA as other stress organic indicators such as epinephrine, cortisol, etc., do increase during certain acute stress situations, however, there seems to be no clear-cut relationship with social stress situations. Nevertheless, this study suggests tha it is possible to suspect of acute stress if high concentrations of VMA are found in a urine sample.

## CONTRIBUCIÓN A LA METODOLOGÍA PARA LA CARACTERIZACIÓN DEL ESTRÉS EN BOVINOS

### 1 INTRODUCCIÓN

#### 1.1 ¿Por qué estudiar el estrés en medicina veterinaria?

La explotación de los animales por el hombre había seguido un patrón de eficiencia productiva y por ende antropocentrista hasta los inicios de la década de los 70's. A pesar de que el concepto de estrés ya era muy conocido para estas fechas, el cambio a una explotación más racional, se ha dado con lentitud. Para muchos médicos veterinarios, por ejemplo, resulta congruente y perfectamente normal limitar el movimiento de una cerda por largos periodos para evitar que aplaste a sus lechones. Esto implica que la naturaleza ha desprovisto a las hembras de esta especie, de la delicadeza suficiente para evitar dicho accidente. ¿La preservación de esta especie sin la mano del hombre, estaría destinada a la extinción? o bien, son los lechones que se llegaran a aplastar los que la naturaleza y no el hombre considera como "redrojos"; esto es, un proceso de selección. Probablemente no sea aventurado pensar que en el manejo de las especies domésticas el hombre ha tomado una perspectiva, si no equivocada, única y no se han dado oportunidad de permitir otros modelos de explotación.

Es factible suponer que el estudio etológico-zootécnico permita una explotación con menos estrés y quizá más productiva. Para que una empresa pecuaria sea productiva, no se debe pensar únicamente en parámetros de producción; el veterinario y el productor deben de contemplar dadas las exigencias económicas actuales, las unidades monetarias producidas. Es decir, el veterinario no produce pollos, produce pesos, y muy a menudo una explotación eficiente en producir unidades pecuarias tiene que gastar una gran cantidad de dinero en medicamentos, instalaciones, sistemas de prevención y manejo para lograr ese número, haciendo inoperante

desde el punto de vista costo beneficio, su explotación aparentemente eficiente. Se reconoce que ciertos tipos de estrés tienen una influencia sobre la respuesta inmune del individuo y por lo tanto la predisposición a enfermedades; el estrés modifica además los patrones fisiológicos y conductuales reproductivos; existe una relación directa entre estímulos productores de estrés (Griffin, 1989; Rivier *et al.*, 1986). Resulta congruente pensar que quizá sea el tiempo de replantear las perspectivas de producción y el concepto de manejo que hasta ahora se tiene. Esto es, el diseño de nuevas explotaciones debe tener como norma prioritaria la reducción del estrés. A pesar de la aparente congruencia de este planteamiento, el punto en el que convergen las investigaciones sobre producción, etología y zootecnia es la evaluación objetiva del estrés. Desafortunadamente, se puede decir que la medición del estrés es uno de los aspectos más difíciles de conseguir en Medicina Veterinaria, ya que el instrumento del lenguaje está evidentemente impedido y es en humanos la principal forma de evaluación del estrés. Las mediciones de las concentraciones de cortisol, las tasas de anticuerpos, las enzimas del metabolismo intermedio de las catecolaminas, las correlaciones etológicas y muchas otras metodologías evaluadas en animales pretenden resolver la pregunta clave: intensidad de estrés. Existen muchos detalles finos entre la interacción animal-hombre que merece investigaciones cuidadosas, seguramente no es lo mismo conducir a "la prieta" mientras se le rasca el lomo, que arrear a "la 225" a la sala de ordeño. En algunos pocos ensayos se ha evaluado la relación que se tiene sobre la influencia de enfermedades, la actitud del encargado o el dueño de la granja. Esto es, se intenta evaluar la empatía del hombre hacia los animales. Los resultados no deben sorprender al estudioso de estrés, disminuye el número de enfermedades y aumenta la producción. (Sumano y Caballero, 1994).

## 1.2 Definición de estrés

Tanto en medicina veterinaria como en medicina humana se maneja a menudo el término de estrés. Este se define como: "el producto de reacciones biológicas y psicológicas que se desencadenan en un organismo cuando se enfrenta de una forma brusca con un agente nocivo, cualquiera que sea su naturaleza " (Navarro-Beltrán, 1984). En biología se utiliza comúnmente el término de estrés para denotar una respuesta inespecífica del organismo ante cualquier demanda externa cuando los animales se encuentran sujetos a condiciones ambientales adversas e interfieren con su bienestar (Stott, 1981). Una definición más actualizada propuesta por Broom y Johnson, 1993, es: "el estrés es un efecto ambiental sobre un individuo que sobrepasa sus sistemas de control, lo que produce alteraciones en la reproducción, en el crecimiento, e incrementa la mortalidad". Al parecer es una definición que resulta más completa, menos inespecífica que las anteriores y hace énfasis sobre los efectos detrimentales del ambiente adverso sobre la producción de los individuos.

### 1.2.1 El concepto de estrés de Selye.

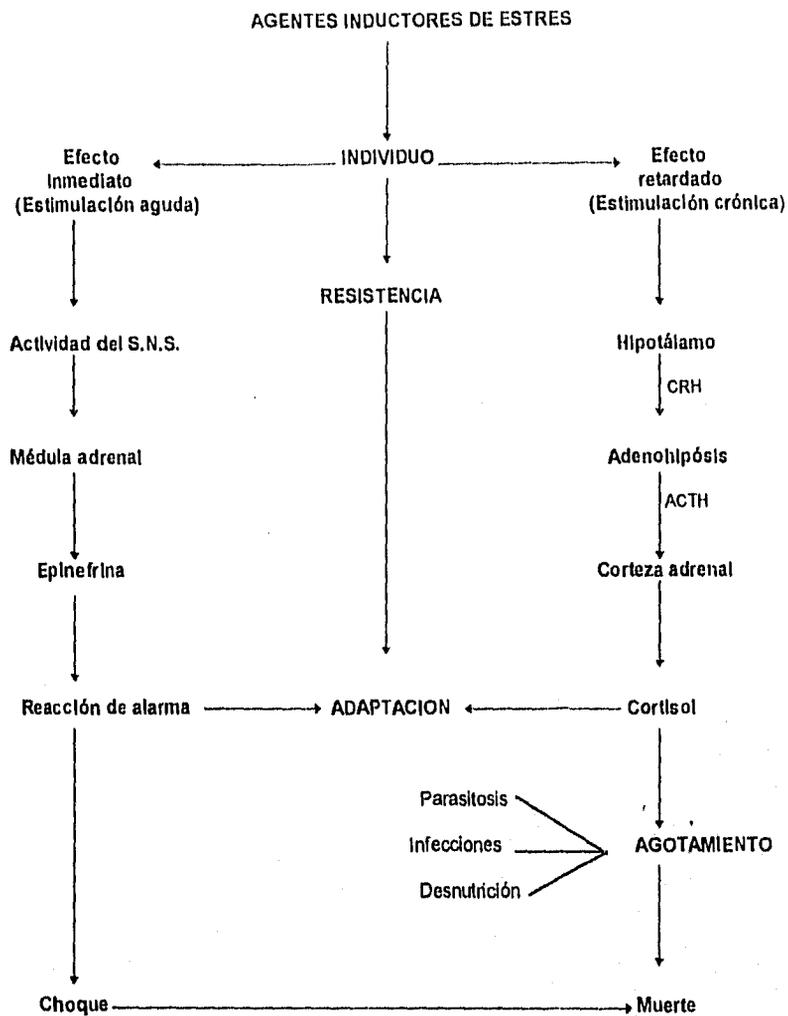
Selye (1973), define al estrés como las respuestas inespecíficas que emite el organismo ante la presencia de un medio adverso o ante agentes inductores de estrés (AIE) (stressors en inglés). Los AIE alteran la reacción generalizada y desequilibran los mecanismos reguladores homeostáticos. Al alterarse estos mecanismos, el organismo pierde la capacidad de mantener sus oscilaciones fisiológicas dentro de sus límites normales y es cuando surge el Síndrome General de Adaptación (SGA). Este consiste en la presentación de los cambios inespecíficos o respuestas de estrés inducidos en un sistema biológico, e incluyen las respuestas de las estructuras somáticas y viscerales, las alteraciones metabólicas que originarán alteraciones endocrinas y nerviosas, cambios en los patrones conductuales normales y desórdenes reproductivos, pérdida de peso, disminución en la producción, finalmente la adaptación o la muerte del sujeto (Dantzer, 1983).

El SGA consta de tres fases:

La primera es la reacción de alarma, que involucra la respuesta inmediata del sistema nervioso simpático ante una estimulación aguda. La segunda fase se presenta cuando hay una estimulación de tipo crónico y existe la activación del sistema hipotálamo-hipófisis-corteza adrenal (H-H-A) cuyas implicaciones, en ambos casos pueden llevar al organismo a un estado de adaptación y resistencia. La reacción de agotamiento es la última fase del síndrome, en donde la respuesta del individuo ante un estímulo crónico, sobrepasa los niveles de resistencia y trae como consecuencia el agotamiento de la energía de adaptación y finalmente la muerte (Selye, 1973) (Figura 1).

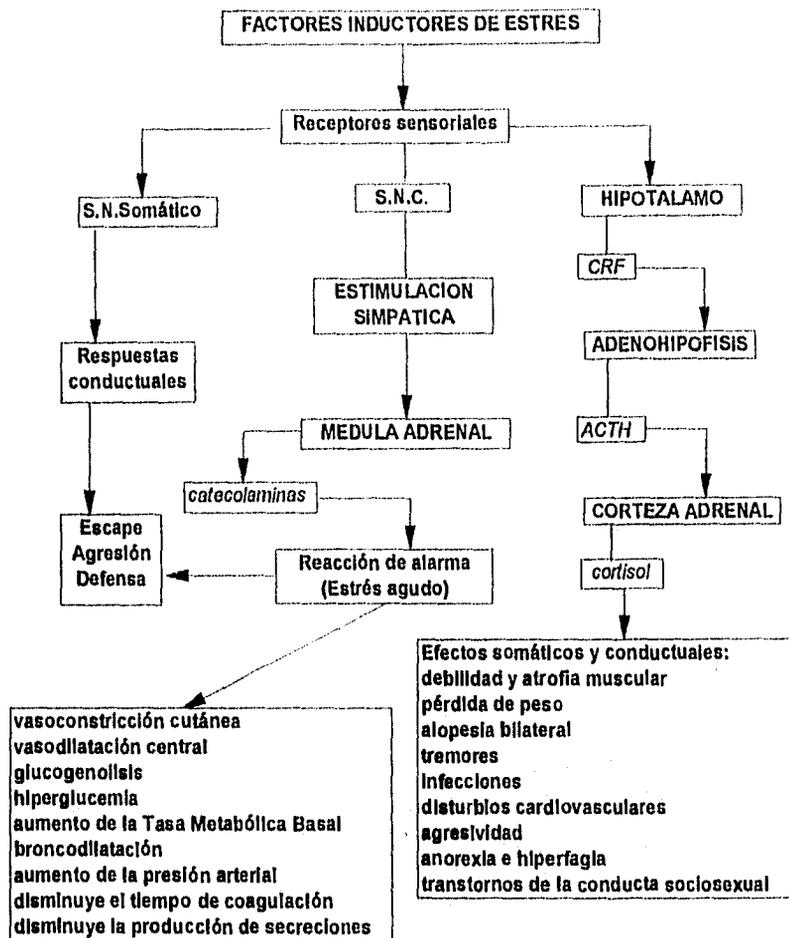
Algunos autores sitúan al estrés fuera de lo fisiológico y dentro de lo fisiopatológico conceptualizándolo como el conjunto de manifestaciones patológicas provocadas, en última instancia, por el agotamiento de la energía de adaptación en el animal (Figura 2) (Fowler, 1978; Moberg *et al.*, 1987).

El término de estrés lo usan para describir los ajustes fisiológicos y conductuales extremos que tiene que hacer un individuo al enfrentarse a un manejo inadecuado o a un ambiente adverso (estrés fisiológico o eustress) (Figura 3). Son la duración y la intensidad de la demanda externa, las que determinan si la respuesta dañará al organismo. En humanos este daño toma varias formas, por ejemplo: la deposición de sustancias grasas en las paredes de los vasos sanguíneos, la ulceración del tracto alimentario y la depresión de la respuesta inmune, entre otras (Ewbank, 1985). Este conjunto de manifestaciones es definido por Selye (1973), como "distress", cuando el estrés molesta o produce daño fisiopatológico al individuo y probablemente es causa de sufrimiento. Además de estos dos conceptos Ewbank (1985), ubica en medio de estos al término de "overstress", es usado para cubrir los aspectos poco perjudiciales del estrés y lo restringe a los mecanismos adaptativos inofensivos que causan poco daño al individuo (Tabla I).



**Figura 1.** Esquema de " Síndrome General de Adaptación ". Modificado de Selye (1973).

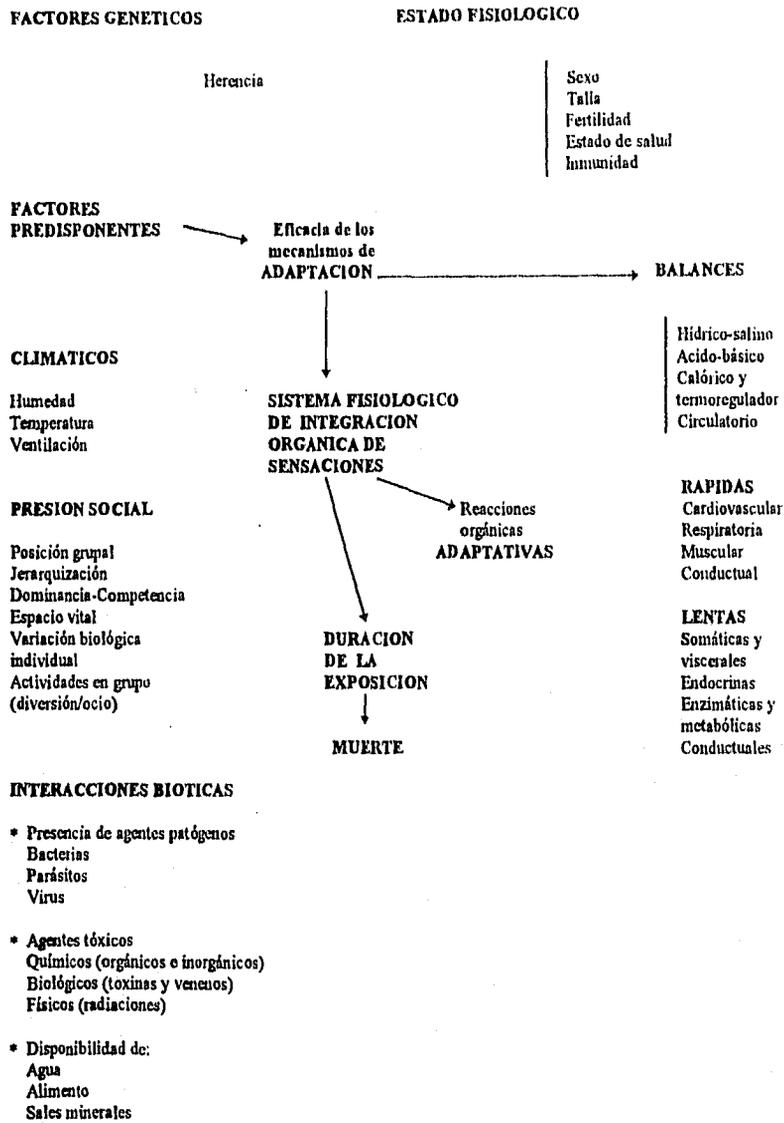
S.N.S. = Sistema nervioso simpático.  
 CRH = Hormona liberadora de corticotropina  
 ACTH = Adrenocorticotropina



S.N.C.= Sistema Nervioso Central  
CRF= Factor liberador de corticotropina

S.N.Somático= Sistema Nervioso Somático  
ACTH= Adrenocorticotropina

Figura 2. Fisiopatología del Síndrome General de Adaptación. Modificado de Fowler, M.E., 1978.



**Figura 3.** Esquema de las interacciones del animal y su medio. Modificado de Selye (1973) y Fowler (1987).

**Tabla L. Niveles de estrés y su repercusión global sobre el individuo.  
Adaptado de Selye (1973) y Ewbank (1985).**

<b>Nivel relativamente bajo</b>	<b>Nivel medio</b>	<b>Nivel relativamente alto</b>
<b>"Eustress" o Estrés fisiológico</b>	<b>"Overstress"</b>	<b>"Distress"</b>
<b>Reacciones inofensivas para el animal</b>	<b>Algún daño al animal</b>	<b>Daño al animal</b>
<b>Plenamente adaptativa</b>	<b>Probablemente desagradable</b>	<b>Posiblemente adaptativa</b>

Una definición adicional de estrés es la propuesta por Axelrod y Reisine (1984), donde plantean que estrés es todo aquello que induzca la secreción extrafisiológica de adrenocorticotropina (ACTH). Sin embargo, esta definición parece ser mucho más inespecífica que otras, pues la secreción de ACTH puede ser inducida por factores diferentes a los inductores de estrés.

Hasta cierto punto resulta complicado y confuso tratar de entender el término de estrés pues su uso se ha extendido desde ser una palabra que forma parte del vocabulario de los físicos, que implica deformación de un objeto debida a presión; se ha utilizado también en las diferentes áreas como la biología, psicología y neurociencias.

Actualmente, se considera que el estrés no sólo involucra la respuesta aislada de tipo neuroendocrina, sino también a respuestas psicológicas o conductuales y del sistema inmune (SI) (VonBorrell, 1994). Es decir, el estudio del estrés debe hacerse desde una perspectiva integral que involucre a todos estos sistemas. Pues se ha encontrado una estrecha comunicación de tipo bidireccional entre el sistema neuroendocrino y el SI (DeSouza, 1993); así como una íntima correlación con los cambios conductuales (Dantzer, 1984), que al parecer son mediados por la liberación de péptidos a nivel cerebral, tales como la hormona liberadora de corticotropina (CRH), las endorfinas, las encefalinas y dinorfinas, que presentan receptores en el cerebro y también en las células del SI (Broom y Johnson, 1993).

### 1.3 Fisiología y endocrinología del estrés

Los animales responden a los cambios ambientales con una gran variedad de mecanismos de adaptación entrelazados: anatómicos, fisiológicos, bioquímicos, inmunológicos y conductuales. Las respuestas de adaptación pueden ser clasificadas en tipos específicos y no específicos y subdivididos en adaptaciones relativamente rápidas y relativamente lentas. Las respuestas específicas son reacciones de sobresalto, escalofrío, orientación a un sonido repentino y contracción de la pupila con luz brillante. Las respuestas no específicas relativamente rápidas están asociadas con la liberación de epinefrina y norepinefrina (estrés agudo): respuesta de luchar o huir, la vasoconstricción periférica, el incremento del ritmo cardíaco, aumento de la presión sanguínea y del ritmo respiratorio y el incremento en las concentraciones de glucosa sanguínea. Las respuestas relativamente lentas se asocian con la producción de corticosteroides (estrés crónico), cuya secreción tiene profundos efectos sobre muchos de los sistemas corporales (metabólico, bioquímico, fisiológico e inmunológico) (Ewbank, 1985).

En un individuo la magnitud del esfuerzo de adaptación ante cambios nocivos del medio, depende de su capacidad para interactuar con éste de manera favorable (Mormede *et al.*, 1982; Dantzer, 1984; Moberg, 1987). Se sabe además, que las interacciones inapropiadas de los humanos con los animales pueden cambiar el grado de adaptabilidad y resultar en un abuso del bienestar animal, que puede limitar su potencial productivo, reproductivo, inducir cambios conductuales y en casos extremos poner en riesgo la vida del animal (Griffin, 1989).

La capacidad de adaptación y la complejidad de las respuestas fisiológicas están reguladas por la liberación de péptidos a nivel cerebral como la hormona liberadora de corticotropina (CRH), endorfinas, encefalinas, dinorfinas y hormonas a nivel sistémico como las catecolaminas (CA), la adrenocorticotropina (ACTH) y los corticosteroides (CS). La cantidad y proporción de estas hormonas depende del tipo e intensidad de estrés experimentado (Johnson y Vanjonak, 1976; Axelrod y Reisine, 1984). Además, recientes investigaciones sugieren la interacción coordinada de los sistemas neuroendocrino e inmune ante un AIE, de tal manera que se propone una comunicación bidireccional entre estos sistemas. Así pues, la respuesta al estrés, se organiza de

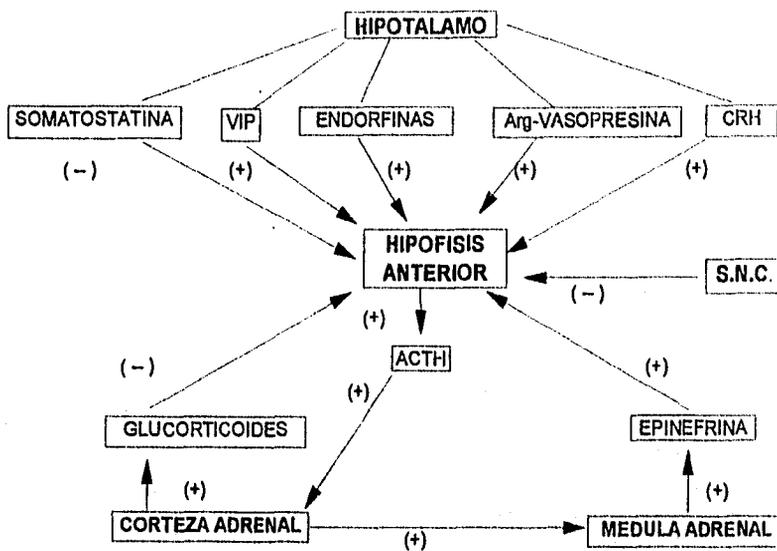
la siguiente manera: El sistema nervioso central interpreta las señales desencadenadas por un estrés inminente y los centros cognoscitivos del cerebro como la corteza cerebral perciben amenazas externas y actúan iniciando los mecanismos de respuesta (VonBorell, 1994). La hormona liberadora de corticotropina (CRH) parece ser la llave central que desencadena los cambios endocrinos, fisiológicos, neuroquímicos y conductuales observados durante el estrés (Vale *et al.*, 1981, Dunn y Berridge, 1990). La CRH es sintetizada en el hipotálamo, por las neuronas del núcleo paraventricular. Como respuesta a un AIE, la CRH es liberada de la eminencia media y transportado por el sistema porta a la hipófisis anterior incrementando la síntesis y secreción de adrenocorticotropina (ACTH), de tal forma que funciona como activador del sistema H-H-A. El CRH también funciona como neurotransmisor cerebral para diferentes funciones, por ejemplo, la administración intracerebroventricular de CRH activa al sistema simpático y al sistema adrenomedular dando como resultado el incremento de la concentración plasmática de norepinefrina y epinefrina y la consecuente elevación de la frecuencia cardíaca y de la presión arterial (Fisher *et al.*, 1982). Los sitios receptores para CRH se han identificado en diversas partes del cerebro, incluyendo áreas involucradas con la función cognoscitiva y con el centro de las emociones o sistema límbico que incluye estructuras como el hipotálamo, el núcleo talámico, la amígdala y el hipocampo (De Souza *et al.*, 1991). Las dos últimas estructuras han sido relacionadas en los procesos en los que se capacita al animal para responder a una amenaza o estímulo de frustración (Henry, 1985).

Es sabido que durante la respuesta aguda al estrés se presenta la elevación de las concentraciones plasmáticas de epinefrina y norepinefrina, que resulta de la activación del tejido adrenomedular por el sistema nervioso simpático y por la vía CRH. Si un AIE persiste por largos periodos, o bien si la respuesta al estrés es muy intensa, sobreviene estimulación del sistema hipotálamo-hipófisis anterior-corteza adrenal conocida también como respuesta crónica al estrés. La regulación de la secreción de ACTH y glucocorticoides también se da por ciclos de retroalimentación positiva, en los que la biosíntesis de catecolaminas en la médula adrenal está determinada por la cantidad de corticosteroides circulantes y las concentraciones de

catecolaminas sanguíneas, también estimulan la liberación de ACTH por la hipófisis anterior (Axelrod y Reisine, 1984; Dantzer, 1986) (Figura 4).

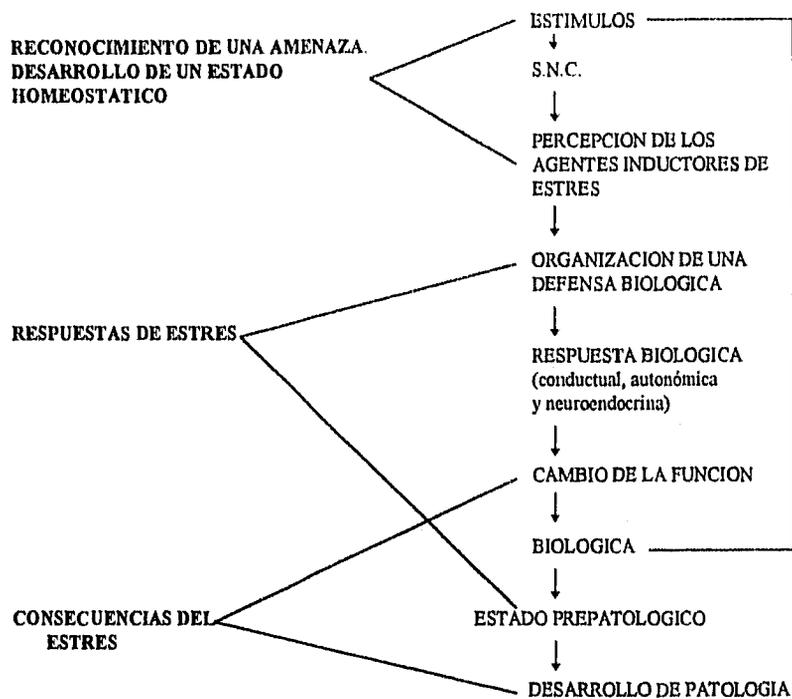
Además de la hormona liberadora de la corticotropina (CRH), los péptidos intestinales vasoactivos, las  $\beta$  endorfinas y la arginina-vasopresina, estimulan la liberación de ACTH, mientras que los corticosteroides, la somatostatina y la norepinefrina cerebral inhiben su secreción. Todos estos agentes actúan juntos y determinan las respuestas fisiológicas ante una gran variedad de AIE (Axelrod, y Reisine, 1984). Se conoce además que las concentraciones de catecolaminas, corticosteroides y el estrés, están asociados con el aprendizaje y la adaptación en animales y humanos (Levine, 1985). Por ejemplo, según Henry y Stephens (1977), un estímulo impredecible e incontrolable puede desencadenar la activación del hipocampo e inducir la activación del sistema H-H-A, produciendo a su vez la depresión de la conducta. En cambio la capacidad para controlar algunos efectos del estrés, al parecer, está asociada con la activación del sistema nervioso simpático que prepara al animal para pelear o huir (Von Borell, 1994).

Según Moberg (1987), la respuesta de los animales hacia un AIE se vale de tres componentes principales (Figura 5). El primero es el reconocimiento de la amenaza, que ocurre a nivel de sistema nervioso central y que culmina en una organización de defensa biológica de tipo homeostático (eustress). El segundo es la respuesta al estrés que confiere cambios conductuales, autonómicos y neuroendocrinos que llevan al individuo a presentar cambios que afectan su economía corporal y es compensada por actividades biológicas que anteceden al estrés como la gluconeogénesis inducida por los corticosteroides (overstress). Si los estímulos inductores de estrés son prolongados, entonces se desarrollará el tercer componente que es un estado prepatológico en el que sobrevienen cambios hormonales y conductuales que preceden al estado patológico en el cual se altera la capacidad individual para mantener las funciones normales y se desarrolla alguna enfermedad, cesan la reproducción y la producción y existen alteraciones conductuales como la agresividad o presentación de estereotipias (distress). Es esta última fase la que a menudo se usa para medir los efectos del estrés. Moberg (1987), propone que es el estado prepatológico el que puede resultar un buen indicador de estrés.



VIP= Péptido intestinal vasoactivo  
 ACTH= Hormona adrenocorticotrófica o adrenocorticotropina  
 S.N.C.= Sistema Nervioso Central

Figura 4. Control multihormonal de la secreción de la adrenocorticotropina.



**Figura 5.** Modelo de la respuesta animal hacia un evento inductor de estrés. Tomado de Moberg (1987).

#### 1.4 El concepto de estrés social

Zayan y Dantzer (1990), definen al estrés social como la forma en que los factores sociales influyen de manera adversa sobre la conducta y la fisiología de animales subordinados u oprimidos por la presencia de otros. Este concepto encuentra su origen en la observación de que la alta densidad de población desencadena respuestas fisiológicas como la activación del eje H-H-A y respuestas conductuales características de estrés. Aunque no sólo los animales oprimidos padecen estrés social, pues los animales dominantes en aras de defender su estatus social se encuentran en continuo estado de estrés social (Zayan, 1990).

Dentro de los factores o agentes que inducen estrés social en los animales domésticos se encuentran la presencia de agresión, tensión social entre congéneres, la falta de predicción del tipo de interacción debidas a la sobrepoblación o la perturbación de los vínculos sociales como producto del establecimiento de jerarquías sociales. Dichos factores inducen cambios fisiológicos y conductuales entre los miembros del mismo grupo, que en caso de una estimulación crónica pueden producir alteraciones productivas y reproductivas, o conducir a la muerte a algunos de los miembros del grupo (Boussiou, 1988).

Según Mormede, 1990, los factores inductores de estrés que desencadenan estrés social pueden ser agudos, como la mezcla de animales de diferentes grupos sociales, exposición a un nuevo ambiente y el aislamiento total. Por ejemplo, después de agrupar a animales de diferentes grupos sociales, las interacciones agresivas se incrementan por las primeras 72 horas sobreviniendo posteriormente, una estabilidad en el grupo. En sus estudios sobre los efectos de la reagrupación sobre la conducta, Stookey y Gonyou (1994), establecen que el estrés social negativo en cerdos en finalización, se asocia con la presencia de animales extraños, y si persiste más allá de las 24 horas y es suficiente para limitar la ganancia de peso por más de dos semanas.

Los factores inductores de estrés social crónico pueden ser la sobrepoblación y la rotación entre animales de diferentes grupos, y aunque se hayan precisado los factores causantes de estrés

social, la naturaleza exacta de las respuestas producidas por estos aun no están bien dilucidados (Zayan, 1990).

El estudio del estrés social, tiene varias limitantes, ya que generalmente se hace más énfasis sobre los aspectos negativos de la vida de los grupos sociales, que sobre los aspectos positivos; tal es el caso de la cooperación y el apoyo social (Dantzer, 1990). Por ejemplo, se piensa que en los animales domésticos la crianza intensiva ha traído como consecuencia el aumento en el número de factores de estrés, debido en parte, a las fuertes densidades de población y la perturbación del conjunto de las relaciones sociales; crianza artificial, separación de sexos, reorganización continua de grupos (Boussiou, 1988). Sin embargo, se debe tomar en cuenta, la importancia que tienen los grupos sociales, ya que la adecuada organización de animales adultos es sólo posible cuando estos animales han tenido un desarrollo rico en contactos sociales durante la vida temprana, que permiten la socialización y el aprendizaje. En los grupos de animales adultos, la estabilidad social es óptima cuando los individuos involucrados se conocen bien entre ellos y esto se refleja con una buena producción (Wiepkema y Schouten, 1990) e incluso sobre el desarrollo del comportamiento sexual.

Los agentes inductores de estrés social, por su parte, reducen la capacidad individual de reconocimiento y es por eso que ante un ambiente social adverso, los animales tienen que cambiar su forma de "enfrentar" esta situación, ya que se reduce su capacidad para predecir y controlar los acontecimientos que no le son familiares. Esto trae como consecuencia conductas trastornadas, expresiones emocionales y cambios fisiológicos (Dantzer y Mormede, 1983). Existen algunas situaciones tales como la introducción de un animal extraño o el movimiento de los miembros de un grupo establecido, reduce la seguridad ya existente entre las relaciones sociales. Una situación similar ocurre cuando se forma un nuevo grupo (Wiepkema y Schouten, 1990) y los animales dominantes jerárquicamente pudieran iniciar la agresión en contra del nuevo o los nuevos animales introducidos.

En algunas circunstancias, dadas las condiciones de manejo, es necesario limitar el espacio vital por animal, lo cual incrementará el número de interacciones sociales por la competencia por espacio y recursos i.e. alimento, espacios para descanso. Comúnmente se realiza la mezcla entre grupos de vacas que no son familiares, causando de esta forma estrés social (Mench, 1990). Como regla general, se postula que el miedo inducido por la agresión que se presenta durante las peleas o durante las interacciones agonísticas, indudablemente generan estrés social en las vacas que tienen una jerarquía social más baja y cambio en el comportamiento de mantenimiento que los predispone a padecer algunas enfermedades como cojeras y mastitis (Huntingford y Turner, 1987; Galindo, 1994). Al parecer, la presencia de agresión en un grupo social no resulta ser por sí misma un buen indicador de estrés social, dado que estos eventos conductuales tienen que ser relacionados con los indicadores fisiológicos que revelen la existencia de estrés fisiológico, particularmente la elevación de catecolaminas y corticosteroides circulantes. Mendl *et al.*, (1992), en un estudio realizado mezclando cerdas primíparas no familiares, argumentan que, existen estrategias conductuales de tipo agresivo que podrían ser indicadoras de estrés en el grupo de animales que no es plenamente exitoso. En su estudio clasifican a las hembras que presentaron más actividad, que son capaces de desplazar a otras, que presentan más interacciones sociales y son agresivas como animales de "éxito alto"; las hembras "sin éxito" eran aquellas que no desplazaban a otras, eran más apáticas, agresión nula y no mostraban interacciones sociales y las hembras de "éxito bajo" tenían capacidad de desplazar a algunos animales, pero se desplazaban más a ellas mismas, a pesar de su falta de éxito en los encuentros agonísticos y presentaron altos niveles de agresión mucho más altos que las de "éxito alto". El grupo de "éxito bajo", en comparación de los otros dos, mostró las concentraciones de cortisol salivales más altas y mostraron un pico de cortisol más elevado como respuesta a la administración de ACTH, ganaron menos peso y los lechones de sus camadas fueron los de menor peso al nacimiento. Esto nos indica que, al menos en este caso, no son los animales dominantes, ni los subordinados los que presentan más respuesta ante el estrés social y que las hembras de rango intermedio que presentaron más agresividad con poco éxito resultó ser una

actividad más inductora de estrés social, por lo que la estrategia para “sobrellevar” una situación en un ambiente social adverso es más importante y la presencia de estrés social podrá traer consecuencias a nivel reproductivo.

En estudios realizados en otras especies animales (monos babuinos), sin embargo, el aumento en la concentración sanguínea de andrógenos está íntimamente relacionada con la agresión y la disminución de estos con la sumisión (Sapolski, 1982). Asimismo se ha demostrado que los animales sumisos además de presentar bajas concentraciones de andrógenos presentan altas concentraciones de corticosteroides (Golub, 1979).

Los estudios en primates, han sido realizados en animales de sexo masculino, sin embargo no sería aventurado pensar que en el sexo femenino ocurriera algo similar. Al respecto, Pratt y Lisk (1991), postulan que en hembras hámster dorado la progesterona puede jugar un papel importante sobre los efectos del estrés social sobre el tamaño de la camada, pues al parecer las hembras subordinadas producen menor cantidad de progesterona y camadas más pequeñas que las dominantes.

Una visión más amplia e integrativa de lo que es el estrés social va de acuerdo con lo que establece Zayan (1990), que postula que este concepto debe incluir tres niveles de análisis. El primero implica un nivel de análisis sociológico en el que se plantea: un animal que forma parte de un grupo social estará expuesto a conspecíficos sean o no miembros del mismo grupo o sistema social. El grado de estrés que padezcan los miembros del grupo depende, en parte, del establecimiento de organización, estructura y ambiente social y físico inmediato. El estrés puede incrementarse por la inestabilidad, la cohesión pobre y la pérdida de integración o la falta de la integración del grupo social en sí mismo, que puede ser explicada por la presencia de diferenciación y segregación, el aumento de competencia y el incremento de la movilidad social. El segundo nivel de análisis es a nivel psicológico y se refiere a que dentro de una estructura social ya establecida, existen subsistemas, como el establecimiento de subgrupos de más de un individuo i.e. parejas, triadas o tetradas. El análisis de este nivel debe hacerse entre las relaciones sociales y conexiones entre individuos de un grupo, por ejemplo, los encuentros agresivos.

Donde las interacciones agonísticas pueden ser indicadores de las relaciones sociales, por ejemplo, el que presenta agresión constante es dominante sobre el que responde sumisivamente con huidas repetidas. Sin embargo, este proceso no es tan simple como una relación binomial absoluta, sino que existen otros procesos interindividuales que no son observables directamente y que son establecidos por un sistema cognoscitivo que incluye el reconocimiento social, las afinidades emocionales que afectan el estado de los miembros de un grupo y las interacciones animales predictivas-descriptivas. Por ejemplo, el estrés social puede ser aumentado cuando un oponente detecta a otro como extraño y puede ser reducido o no estar presente si hay un reconocimiento entre conspecíficos como familiares o como individuos, si se reconocen entre ellos como conspecíficos asociados con el pasado y persiste una experiencia de dominancia o subordinación. El reconocimiento social inhibe la agresión entre conspecíficos y la aumenta con los extraños. El tercer nivel de análisis incluye a las respuestas individuales como parte de un subsistema del grupo y que reflejarán el estado orgánico hacia los agentes inductores de estrés que pueden servir como indicadores de estrés social. En la Figura 6 se presenta un esquema de los niveles de análisis del estrés social.

## NIVELES DE ANALISIS DEL ESTRES SOCIAL

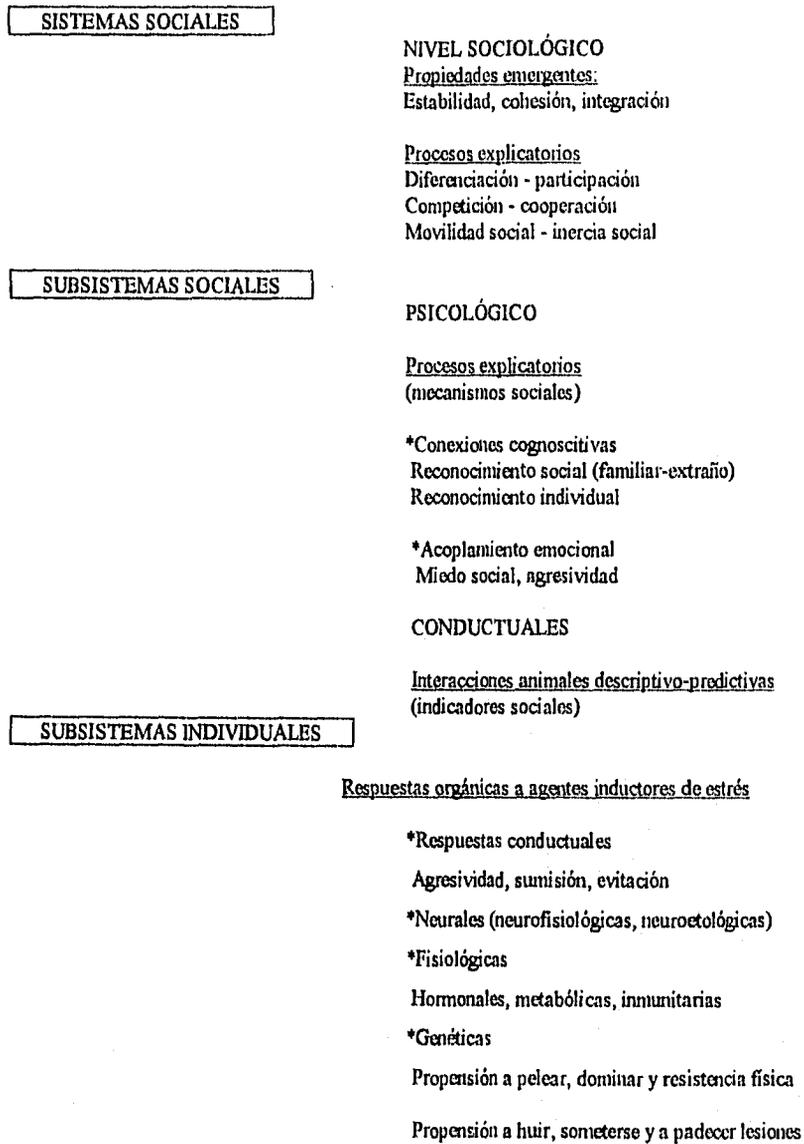


Figura 6. Esquematización de los niveles de análisis del estrés social. Modificado de Zayan, R., 1990.

### 1.5 Estrés y sistema inmune

Durante mucho tiempo se ha hablado acerca de los efectos detrimentales que produce el estrés crónico en el organismo de los individuos, tales efectos son atribuidos a la presencia de hormonas como los corticosteroides que afectan al sistema inmune (SI) disminuyendo su capacidad de respuesta a enfermedades, aunado a un bajo rendimiento productivo. Sin embargo, existen muchas dudas acerca de los efectos reales de estas hormonas como inmunodepresoras ya que hay evidencias que aseguran que estas producen un efecto inicial opuesto. Muchas de las respuestas hacia el estrés están asociadas a una modulación bidireccional entre los sistemas neuroendocrino e inmune; surge además un supuesto adicional que refiere una inmunomodulación directa dada mediante la participación de la neocorteza de los hemisferios cerebrales (Barneoud *et al.*, 1988).

El mantenimiento de la homeostasis del organismo depende de la función normal del sistema neuroendocrino y del sistema inmune. Estudios llevados a cabo en ratas indican que existe una estrecha relación entre el estrés, la sensación de miedo y ansiedad y la modulación del SI, es decir, existe una inmunomodulación mediada por el sistema nervioso central. Por ejemplo, el estrés puede inducir supresión de la actividad de las células T, las células B, las células asesinas, la blastogénesis y la producción de citocinas (Sonnenfeld *et al.*, 1992). También existen claras evidencias sobre la influencia del SI sobre el sistema neuroendocrino, por ejemplo, un estudio en ratas demostró que durante la respuesta inmune activa en el caso de la inmunización con eritrocitos de oveja, los animales eran capaces de aprender más rápidamente (Lysle *et al.*, 1991). Durante el estrés, los corticosteroides producidos pueden tener gran influencia sobre la supresión del sistema linfocitario (Figura 7), incluso se han asociado a la presencia de tumores (Blalock, 1989); estos efectos son mucho más variados cuando se presentan en bajas dosis o en

especies que son relativamente resistentes al efecto de los corticosteroides. Es posible que los efectos inmunosupresores de los corticosteroides hayan sido sobrestimados, ya que la mayoría de los estudios se llevan a cabo en los ratones de laboratorio que son clasificados como animales cuyos linfocitos son más susceptibles a la lisis por corticosteroides. Los bovinos pertenecen a las especies cuyos linfocitos son poco susceptibles a sufrir lisis debida a los corticosteroides (Roth, 1985). Estas observaciones clínicas indican que, para algunas especies animales, los corticosteroides ejercen efectos que dañan los mecanismos de defensa del huésped y están asociados a hipertrofia adrenal, involución tímica, linfopenia, eosinopenia y neutrofilia. En los bovinos las variaciones humorales encontradas son neutrofilia, eosinopenia y linfopenia (Griffin, 1989).

En bovinos, para demostrar los efectos de los corticosteroides a dosis elevadas se han realizado experimentos inyectando hormona adrenocorticotrófica (ACTH). Los resultados indican que los corticosteroides inducen una disminución en la resistencia del animal ante diferentes enfermedades y también son causa de activación de infecciones latentes como la rinotraqueítis viral bovina (Davies y Duncan, 1974), coccidiosis (Griffin, 1989), diarrea viral bovina (Shope *et al.*, 1976), parasitosis (Callow y Parker, 1969) y enfermedades causadas por herpesvirus (Sheffey y Davies, 1972). En los bovinos los CS producen inmunodeficiencia caracterizada por reducción de los niveles de inmunidad humoral (May *et al.*, 1979) y blastogénesis linfocitaria *in vitro* (Roth, 1985). En contraste la administración simultánea de CS y la vacuna contra diarrea viral bovina produce un incremento de los niveles de resistencia inmune y presentan un cambio subsecuente en el que estos disminuyen (Roth y Kaeberle, 1981a).

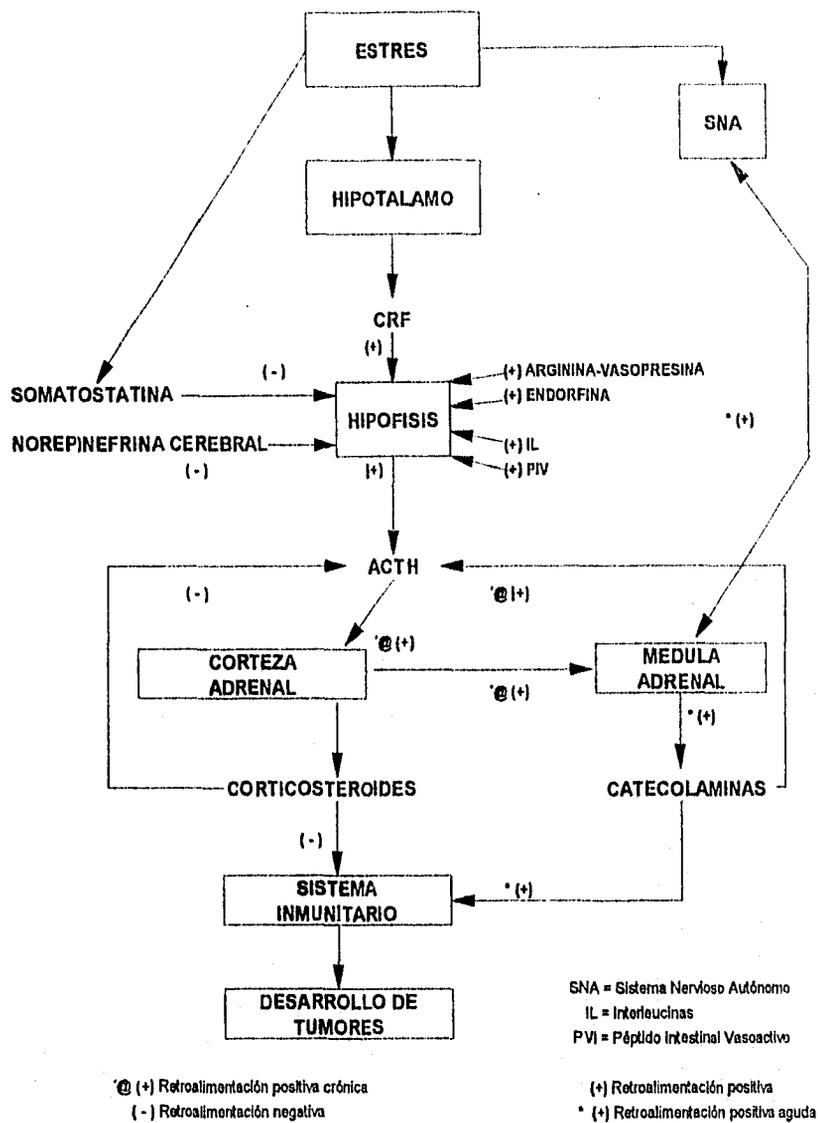


Figura 7. Mecanismo de regulación hormonal durante el estrés y sus efectos en el sistema inmunitario.

Es necesario señalar que en bovinos la activación de la producción adrenocortical de corticosteroides por inyección de ACTH no siempre produce linfopenia (Roth, 1985) aunque otros estudios indican que puede tener efectos variables sobre la respuesta inmune (Roth y Kaeberle, 1981b; Caballero y Sumano, 1994). Por ejemplo, existen algunos ensayos en donde se han aplicado estímulos inductores de estrés, como sería el caso de la acupuntura, que provocan resultados aparentemente benéficos en animales en producción así como una mejoría evidente en la eficiencia reproductiva (Bachman, 1988; Hwang, 1988; Sumano, 1989). Por otro lado, los estudios en rechazo de tumores demuestran que la administración de CS en ratas, 3 a 7 días previos al implante tumoral, provoca un incremento del rango de rechazo al tumor, mientras que la administración de CS de 4 a 6 días después del implante del tumor provoca menores rangos de rechazo (Riley, 1981). Otro punto de vista nos muestra que la inmunodepresión producida durante el estrés produce una disminución del rango de resistencia a los tumores en ratas, en especial una supresión en la actividad de las células asesinas citotóxicas. Estos efectos parecen ser mediados por los péptidos opioides que son liberados durante el estrés (Shavit *et al.*, 1984). Se ha postulado incluso, que la elevación de las concentraciones de CS puede causar un incremento en la respuesta inmune más que una inmunosupresión (Griffin, 1989). Este incremento en la respuesta inmune ha sido asociado a la comunicación bidireccional que existe entre el sistema neuroendocrino y el SI, ya que es sabido por ejemplo, que los linfocitos pueden producir polipéptidos que actúan como comunicadores hacia otras células inmunes, a otras regiones cerebrales o bien modificando la respuesta endocrina (Dunn, 1988). Es sabido que los linfocitos pueden producir hormonas como la ACTH que actuaría inhibiendo la respuesta inmune y limitaría la autodestrucción (Besedovsky *et al.*, 1983).

### 1.5.1 Función de los corticosteroides sobre el sistema inmune. Enfoque bidireccional.

Aunque existen muchas evidencias *in vivo* e *in vitro* sobre el efecto inhibitorio de los corticosteroides (CS) hacia el sistema inmune (SI), muchos de estos efectos derivan de aplicarlos en dosis no fisiológicas de CS (Dunn, 1988). Por el contrario, dosis muy bajas incrementan la proliferación de células del SI (Ritter, 1977). Dunn, (1986), considera que los CS generados por el estrés no son exclusivamente inmunosupresores e incluso Monjan y Collector (1977), califican al estrés como un agente potenciador de la respuesta inmune.

El incremento de CS circulantes después de una infección y la aparente activación de las células cerebrales catecolaminérgicas activadas por diversos factores inductores de estrés dan lugar a cambios en el SI y a su vez, la respuesta inmune afecta a circuitos catecolaminérgicos en el SNC. Después de la infección sobreviene la proliferación del SI y la producción de linfocinas como la interleucina-1 (IL-1) (relacionada con la producción de fiebre), ahora considerada como activadora del sistema H-H-A, al inducir la producción de CRH, de ACTH y de corticosteroides que regularán la respuesta inmune limitando los mecanismos de autodestrucción (Woloski *et al.*, 1985; Besedovsky *et al.*, 1986), así como estableciendo una comunicación bidireccional entre ambos sistemas (Blalock, 1989). Quizá resulte ilustrativo recurrir a un ejemplo en el que la bidireccionalidad ha sido comprobada, en un tejido que ha sido dañado o presenta inflamación hay producción de monocitos que liberan IL-1 y factor estimulante de los hepatocitos (HSF), que regulan la reactividad y síntesis de linfocitos, estas linfocinas también activan al eje hipotálamo-hipofisario incrementando las concentraciones de CRH, ACTH y corticosteroides que actúan sobre el hígado incrementando la síntesis de proteínas hepáticas e inhibiendo la liberación de ACTH en las células pituitarias y la subsecuente producción de CS y a su vez

bloqueando la síntesis de IL-1 y HSF por los monocitos. La importancia de este hallazgo radica en que: 1) los derivados monocíticos son potentes activadores de la liberación de ACTH a través del control del eje pituitario adrenal y 2) se plantea la existencia de un eje monocítico-pituitario que forma parte del circuito regulatorio neuroinmunoendocrino (Wolowski *et al.*, 1985).

Blalock *et al.*, (1985), utilizó ratones hipofisectomizados y luego los inoculó con virus de la enfermedad de Newcastle encontrando un incremento en las concentraciones de corticosterona plasmática, indicando que la cantidad de ACTH producida por el SI es suficiente para activar a la corteza adrenal por lo que propone, que es el SI el que va a generar una respuesta al estrés (liberación de ACTH). Los datos anteriores no han sido comprobados plenamente (Smith *et al.*, 1982) o bien se argumenta que la cantidad de hormonas producidas no son suficientes (Dunn, 1988) para ser activadores funcionales.

En otros intentos de evaluar la comunicación bidireccional se ha propuesto que las células del SI son capaces de producir péptidos derivados de la proopiomelanocortina (POMC), debido a que por ejemplo, los leucocitos contienen RNAm para POMC que da origen en particular a la (ir)ACTH, que tiene una secuencia idéntica a la hormona ACTH hipofisiaria (McLoughlin *et al.*, 1989). Clarke *et al.*, (1993), demostraron que los linfocitos activados con un mitógeno por ejemplo concanavalina-A o lipopolisacaridasa, estimulan la liberación de una molécula de ACTH con una antigenicidad específica idéntica a la ACTH hipofisiaria y que la cantidad en que era liberada podía inducir la producción de CS en células adrenales.

Otros autores denotan, que la liberación de citocinas a la circulación produce un incremento en la respuesta inmune que a su vez activa al eje hipotálamo-hipofisis-adrenal (H-H-A) e inhibe al eje hipotálamo-hipofisis-gonadal (H-H-G) (Uehara *et al.*, 1987). Además, una exposición prolongada a las interleucinas (IL) puede de hecho, actuar directamente sobre la adenohipofisis

para liberar ACTH (Berkenbosch *et al.*, 1987). A pesar de esto, Stenzel-Poore *et al.*, (1993), encontraron que las dosis moderadas de antígeno no inducen cambios detectables sobre el eje H-H-A pero si una fuerte respuesta inmune, sustentando que la activación del eje H-H-A no es un paso obligatorio dentro de la cascada neuroinmune y concluyen que, la estimulación del H-H-A a través de la vía inmune, depende en gran medida de la fuerza de esta respuesta.

### 1.5.2 Comunicación entre el sistema nervioso y el sistema inmune

Es sabido que el sistema nervioso ejerce un efecto modulador sobre el SI, ya que por ejemplo, la respuesta inmune (RI) es dañada cuando existen lesiones en estructuras subcorticales del sistema nervioso central especialmente la porción anterior del hipotálamo o bien la destrucción de las vías aminérgicas centrales producen una alteración de la RI. Belhardo *et al.*, (1990), afirman que las lesiones hipotalámicas producen un incremento significativo en la actividad de las células asesinas y citotóxicas. Por otro lado, encuentran que los efectos de la decorticación derecha primariamente afectan la actividad de las células asesinas y que la decorticación izquierda induce más actividad en las células citotóxicas. Además mencionan que la corteza cerebral modula la respuesta inmune a través de un control ejercido por el hipotálamo. Actualmente se ha demostrado que la neocorteza cerebral puede modular la RI en el ratón y esto parece operar por una vía asimétrica. Por ejemplo, las lesiones de la neocorteza del lado izquierdo deprimen la producción de mitógeno y las respuestas inducidas por las células T. Estos efectos han sido demostrados en humanos y en ratones y se piensa que también en otras especies de mamíferos estén presentes (Barneoud *et al.*, 1988). En ratones se ha demostrado la asociación funcional entre la reactividad inmune y la asimetría funcional del cerebro y tal reactividad depende del

sexo. Por ejemplo, las ratonas con ablación cortical izquierda presentan una alta linfoproliferación inducida por mitógeno mientras que las ratonas con ablación cortical derecha no la presentaron así como los machos con ablación cortical izquierda; en un modelo autoinmune, las ratonas con ablación cortical izquierda, produjeron anticuerpos anti-DNA y anti-eritrocitos mas tempranamente que las ratonas con ablación cortical derecha. La neuroinmunomodulación también ha sido demostrada por la ablación unilateral de la neocorteza izquierda, que induce depresión de la actividad de los macrófagos, los linfocitos T y B, la proliferación inducida por mitógeno y la producción de IL-2 (Neveu, 1991). En contraste, estos parámetros no mostraron cambios o incremento después de las lesiones en el lado derecho. Neveu *et al.*, 1991, demostraron que las lesiones de la corteza cerebral izquierda tienen efectos inhibitorios sobre la reactividad linfocitaria, en contraste con las lesiones del lado derecho. Estos autores proponen una inmunomodulación cerebral asimétrica que además está mediada por la distribución asimétrica de dopamina en los hemisferios cerebrales (Barneoud *et al.*, 1990). Gracias a esta evidencia se sugiere que la neocorteza izquierda está involucrada en la neuroinmunomodulación vía sistema dopaminérgico tuberoinfundibular. Por otro lado, los mecanismos mediante los cuales la neocorteza cerebral derecha puede modular la respuesta inmune no son bien conocidos e incluso, se postula que ésta modula la corteza izquierda y a su vez al SI. Otra posibilidad es que cada hemisferio está modulando la actividad inmune de manera separada y que la neocorteza derecha pueda ser efectiva a través de otras estructuras subcorticales y no del sistema dopaminérgico (Blalock, 1989).

## 1.6 Etología y estrés en los bovinos

La etología es la disciplina que estudia científicamente la conducta de los animales en respuesta a su ambiente (Arave, *et al.*, 1981). Broom y Fraser, 1990, definen a la etología como la observación y descripción detallada de la conducta en orden de averiguar sus mecanismos de función biológica. Hafez (1975) hace énfasis en la importancia de llevar a cabo un entendimiento profundo de la conducta animal en diferentes condiciones ambientales para lograr un análisis completo de los resultados investigados en fisiología, nutrición y zootecnia. Arave (1981), en su revisión, incluye los objetivos que debe perseguir el estudio de la etología en los animales domésticos y son:

- a) evaluar la respuesta conductual al estrés resultante de los sistemas de manejo intensivo.
- b) determinar el rango adaptativo dentro de los grupos genéticos con respecto a las restricciones ambientales.
- c) determinar qué experiencias de aprendizaje pueden ser utilizadas para incrementar los márgenes de ganancia productiva.
- d) acumular y poner a disposición de la comunidad veterinaria, un repertorio de las conductas presentes en los animales (etograma).
- e) determinar los mecanismos fisiológicos involucrados en la conducta.
- f) validar los trabajos de investigación de otras disciplinas.

Para reconocer la conducta de un animal expuesto a estrés, lo primero es conocer la evolución y forma del comportamiento de la especie, que como la vaca lechera, ha sido sometida a las exigencias productivas de los humanos en el transcurso del tiempo (Arave *et al.*, 1981). Esta relación entre el animal doméstico y un ambiente artificial (sistema de producción intensivo o estabulación) han hecho que la conducta de las vacas adopte nuevas modalidades en comparación con los animales que se encuentran en sistemas de producción extensivos o en estado silvestre (Arave *et al.*, 1981; Friend, 1991). Es un hecho que en vías de optimizar los sistemas de producción se han estructurado ambientes artificiales pues, en los sistemas intensivos

se mantienen animales del mismo sexo juntos, la densidad de población en algunos casos es muy alta, o bien se presenta un reagrupamiento constante que conlleva al incremento en los patrones agonísticos. Esto a su vez se relaciona con alteraciones en la reproducción, disminución en la conversión alimenticia, predisposición a enfermedades y el incremento en la mortalidad (Broom y Fraser, 1990).

Por lo tanto, es necesario definir y registrar las conductas presentes en estabulación, para después compararlas con las conductas relacionadas con el estrés e incluso identificar nuevos AIE (Kondo, *et al.*, 1983; Friend, 1989). Para tal fin se recurre a un etograma, es decir, un catálogo que contiene descripciones breves de los patrones conductuales típicos de la especie en estudio y forman parte del repertorio de conducta básica en estabulación, en la sala de ordeña, en pastoreo y con estrés (Kondo, *et al.*, 1983; Martin y Bateson *et al.*, 1986).

En la Tabla II se presentan conductas que pudieran ser consideradas como respuestas a un AIE. Para cuantificar las observaciones de conductas y clasificarlas se han propuesto métodos precisos de observación e incorporación de lo observado a sistemas de acopio denominados matrices (Martin y Bateson, 1986). Con esta metodología se puede medir la conducta animal con objetividad y sin antropocentrismo.

**Tabla II. Cambios del comportamiento presentes en los bovinos ante diferentes modificaciones ambientales.**

MODIFICACIÓN AMBIENTAL	CAMBIOS DE COMPORTAMIENTO	REFERENCIA
	<i>Comportamiento social</i>	
Grupos de vacas sin macho	Formación de grupos con líder matriarcal	Hafez, 1975.
Muchos animales o aún pocos	Establecimiento de jerarquías con agresión; competencia por el alimento	Bouissou, 1975.
Grandes grupos	Formación de subgrupos; establecimientos de jerarquías con menos agresión	Hafez, 1975. Dellmeier, 1985.
Reducción de espacio por animal o área de alimentación restringida	Establecimiento continuo en organización del hato afectando la producción	Hafez, 1975.
Introducción de nuevos individuos	Incremento de la agresividad en el hato	Dickson, 1964. Kondo, 1983.
	<i>Dualidad dominancia-sumisión</i>	
Presencia de animales dominantes y sumisos	Aumento de la agresividad, amenazas, peleas, golpes, que influyen en la conducta de los animales sumisos	Hartsock, 1982. Arave y col., 1981.
Alteración de rutinas	Induce estrés en los animales	Friend, 1991.
Cambio de compañeros de grupo por tiempo limitado	Incremento de patrones agresivos los primeros días, menor agregación y mayor pérdida de peso	Kondo, 1983.
Presencia de ambiente adverso	Incremento de los movimientos horizontales y verticales de la cabeza	Kondo y col., 1988.
	<i>Conductas afiliativas</i>	
Animales de alta producción, alto peso o más viejos	Reciben más acicalamiento entre individuos que los de rango social bajo	Arave y col., 1981.
	La ausencia de acicalamiento revela estrés excesivo	Friend, 1991.
	<i>Comportamiento sexual</i>	
Ausencia de macho	Hiperactividad y conductas homosexuales	Hafez, 1975.
	<i>Conductas de mantenimiento</i>	
Transporte	Presentan mayor tendencia a orinar y defecar	Friend y col., 1985.

## 1.7 Cuantificación del estrés en los bovinos

### 1.7.1 Hormonas

En los bovinos productores de leche resulta esencial conocer y evaluar los efectos de los posibles estímulos inductores de estrés agudo y crónico, ya que influyen directamente sobre la producción. Se sabe que estos estímulos inducen una conducta de alarma inicial, una disminución del consumo de alimento y una consiguiente disminución de la producción láctea (Friend *et al.*, 1977, Drenkard *et al.*, 1985). Asimismo, puede haber alteraciones reproductivas debidas a la inhibición del sistema hipotálamo-lipofisis-gonadal produciendo por ejemplo, la supresión de las actividades reproductivas, inhibición de la ovulación, entre otras.

Para evaluar la influencia de los factores inductores de estrés sobre la lactancia se han utilizado parámetros de medición de las hormonas relacionadas con la producción de leche, como la prolactina, la hormona del crecimiento, el cortisol y la tiroxina así como las hormonas relacionadas con el estrés como las catecolaminas y el cortisol (Johnson y Vanjonak, 1976). Por ejemplo, se sabe que ante un factor inductor de estrés como es el ruido aplicado a novillas lecheras se produce un incremento inicial de prolactina seguida de una disminución cuando el estímulo se prolonga (Raud *et al.*, 1971). Friend (1985), reporta una elevada concentración de triyodotironina en vacas sujetas a estrés por confinamiento.

#### 1.7.1.1 Corticosteroides

El cortisol y la corticosterona capacitan a los animales para tolerar condiciones de estrés, produciendo ajustes fisiológicos y metabólicos para mantener la homeostasis (Smith *et al.*, 1975). En varias situaciones de estrés i.e. alteraciones del ambiente, temperatura, manejo y alimentación se ha reportado un incremento en las concentraciones de corticosteroides sanguíneos (Johonston y Vanjonak, 1976; Smith *et al.*, 1975). Se ha postulado que la importancia de medir corticosteroides como una repuesta al estrés, radica en que entre otras

cosas, existe una correlación marcada con las manifestaciones conductuales ante un agente inductor de estrés. Esto se debe a que sus receptores se encuentran localizados en regiones específicamente involucradas con la regulación hormonal (hipotálamo e hipófisis) y particularmente en el sistema límbico que juega un papel predominante en la conducta y las manifestaciones emocionales (Henry, 1985; Dantzer, 1986).

Diversos estudios indican que en los bovinos varían las concentraciones de corticosteroides basales (Willet y Erb, 1972; Hudson *et al.*, 1975; Henry, 1985; Moberg, 1987). En consecuencia, este parámetro resulta poco claro la mayor parte de las veces y no puede ser indicador individual y práctico para tasar el estrés en los bovinos y mucho menos para cuantificar su capacidad para ajustarse a condiciones agudas o crónicas de estrés (Friend *et al.*, 1977). Además de que son liberados en respuesta a situaciones que no son consideradas propiamente como inductoras de estrés, como el cortejo, la cópula o la cacería (Broom, 1988). En otras situaciones, en bovinos sometidos a estrés calórico se han realizado medición de las concentraciones de corticosteroides sin encontrar diferencias significativas en relación con un grupo testigo (Gwazdauskas, 1974). Además, se ha demostrado que en animales jóvenes la respuesta adrenal se encuentra parcialmente inactiva, debido a la inmadurez del eje hipofiso-adreno-cortical (Mormede *et al.*, 1982). En contraste, existen otros datos que indican que en bovinos adultos sometidos a estrés térmico agudo sí presentan un incremento en las concentraciones de corticosteroides (Christison y Johnson, 1972; Rhynes y Ewing, 1973). También en animales sometidos a manejo (Crookshank *et al.*, 1979), castración y descorne (Johonston, 1976), ejercicio forzado (Arave *et al.*, 1978) y transporte (Shaw y Nichols, 1969). Añadiendo confusión al cuadro, otros autores han informado (Johnson y Vanjonak, 1976; Lee *et al.*, 1976) que en condiciones similares de calor crónico observaron una depresión en las concentraciones de corticosteroides plasmáticos y una depresión en la producción láctea asociada. En apoyo a este punto de vista, la producción de corticosteroides decrece cuando se administran 200 UI de hormona adrenocorticotrópica en animales sujetos a estrés por calor (Friend *et al.*, 1977). Esta respuesta se ha tomado como constante para otras formas de estrés

por lo que se ha utilizado como variable para medir la capacidad de un individuo para resistir a un agente inductor de estrés. Esto es, en un animal adaptado las concentraciones de ACTH y corticosteroides aumentarían y en un animal no adaptado éstos disminuirían (Venkataseshu y Estergreen, 1970; Smith *et al.*, 1975).

Es necesario considerar además, que las variaciones en las concentraciones de corticosteroides y muy probablemente de otras hormonas, se deben ajustar a la presencia de ritmos de liberación hormonal (Ganhao *et al.*, 1985). En la literatura se han encontrado también ciertas controversias concernientes al ritmo de liberación de cortisol en la vaca y encontramos por ejemplo, que algunos autores reportan para esta especie un ritmo de secreción ultradiano (con ritmos de liberación menores de 24 horas) (Fulkerson *et al.*, 1980); otros (Wagner y Oxeriender, 1972) informan de una liberación diurna o bien, se reporta la ausencia de ritmos diurnos relacionada a la falta de sueño profundo, característica que está íntimamente relacionada con las necesidades digestivas de los bovinos (Balch, 1955; Hudson, 1975). Es por esto que si se usa la medición de las concentraciones de corticosteroides como un parámetro aislado para medir el estrés no sería una práctica adecuada, ya que éstas pueden variar ampliamente por diversas situaciones incluso por estrés o presentar variaciones individuales (Moberg, 1987a). A pesar de estas discrepancias, algunos autores se han preocupado por realizar la detección de cortisol en saliva por radioinmunoensayo y sugieren que ésta es una técnica simple, rápida y segura para medir el estrés, ya que se evita precisamente esto (estrés) en los animales. En el cerdo, por ejemplo, las mediciones de cortisol libre en saliva presentan un patrón similar a los valores medidos en sangre (Fell, 1987; Parrot y Misson, 1989).

#### **1.7.1.2 Catecolaminas**

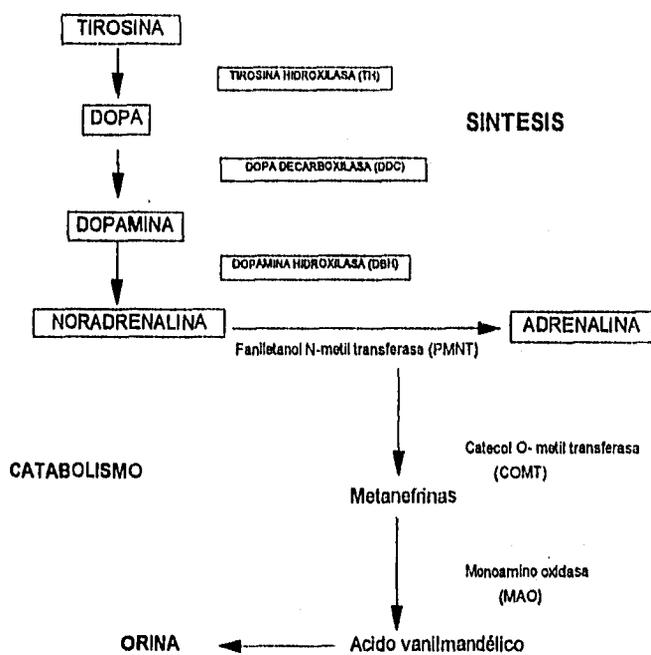
Aunque es sabido que la activación de la médula suprarrenal se presenta como una respuesta al estrés agudo y raramente es usada como indicador del estrés crónico (Broom y Joluson, 1993), es posible que en algunas circunstancias la respuesta del sistema nervioso simpático y la

respuesta de la médula adrenal, como liberación de catecolaminas, así como las enzimas del metabolismo intermedio de éstas, así como sus productos catabólicos como el ácido vanilmandélico, sean buenos indicadores de estrés crónico, ya que se ha encontrado una respuesta de sensibilización de la médula adrenal cuando las ratas de laboratorio son expuestas crónicamente a un agente inductor de estrés con el que no han tenido contacto previo (Boer *et al.*, 1989; Kouarska *et al.*, 1989).

En bovinos, durante el estrés calórico, agudo y crónico, las catecolaminas circulantes se presentan en altas concentraciones en plasma y en leche (Johnson y Vanjonak, 1976; Katti *et al.*, 1991). Kondo y Hurnik (1988), reportaron en un estudio la correlación entre las altas concentraciones sanguíneas de catecolaminas, el aumento de la frecuencia cardíaca y las alteraciones conductuales que ocurrían en animales sometidos a estrés (un ambiente adverso). Con estos ejemplos, es notorio que el estrés en bovinos se puede cuantificar mediante la medición de las catecolaminas (Katti *et al.*, 1991). Para determinar catecolaminas casi siempre se realizan muestreos sanguíneos que inducen estrés adicional al animal.

En ratas sometidas a estrés social, se ha demostrado el incremento de la actividad adrenal mediante la medición de la enzima tirosina hidroxilasa (TH) que está involucrada en la síntesis de catecolaminas, la feniletanolamina N-metil transferasa (PMNT) que convierte noradrenalina en adrenalina y la monoaminoxidasa (MAO) que interviene en el catabolismo de las catecolaminas (Mormede *et al.*, 1990); estas enzimas, posiblemente en un futuro, podrán ser utilizadas en animales domésticos. Por otro lado, las concentraciones de catecolaminas pueden ser cuantificadas de manera indirecta, midiendo las concentraciones de los metabolitos de éstas en orina. El ácido vanilmandélico (AVM) es un metabolito de las catecolaminas de excreción urinaria (Figura 8) y bien puede ser un indicador de estrés, ya que refleja los cambios de la secreción de epinefrina y norepinefrina (Van Euler, 1964). En humanos por ejemplo, el AVM se ha detectado en concentraciones elevadas en saliva en humanos que sufren hipertensión (Zielinsky, 1989). Bajo estas circunstancias, la medición de AVM merece ser explorada como

indicador de bienestar animal (Broom y Jounson, 1993). En Medicina Veterinaria hay pocos estudios en los que se ha intentado medir las concentraciones de AVM en situaciones de estrés, por ejemplo, Savio *et al.*, (1976) midieron las concentraciones de AVM en vacas sometidas a estrés de tipo agudo (moscas) bajo condiciones de temperatura controladas, obteniendo un incremento sobre los valores medios de AVM en orina asociado al estrés. En bovinos, resulta hasta cierto punto práctico realizar muestreos de orina ya que no se molesta ni lastima a los animales. Sin embargo, en vacas no es posible tomar muestras de orina de 24 horas, por lo que mediante una pequeña muestra de 100 ml, se pueden realizar ajustes obteniendo la tasa de filtración de creatinina (Cr) en orina y calcular los mg de AVM/gr de Cr.



**Figura 8.** Principales vías metabólicas de las catecolaminas

### 1.7.2 Neuropéptidos

Se ha informado que durante el estrés existe una activación de los sistemas intrínsecos que producen analgesia debida a la liberación de neuropéptidos endógenos (endorfinas, dinorfinas y encefalinas) del tallo cerebral y en la médula adrenal y cuya secreción es producida por una activación simpática (Dantzer y Mormede, 1983; Terman *et al.*, 1984). Los neuropéptidos tienen el mismo precursor químico que la ACTH la proopiomelanocortina (POMC), se piensa que se secretan de manera paralela a la ACTH (Guillemín *et al.*, 1977). Además del proceso analgésico estos neuropéptidos están involucrados en liberación de prolactina, hormona luteinizante y hormona del crecimiento (Grossman y Rees, 1983), motivación por recompensa. Las concentraciones de endorfinas se han encontrado elevadas en situaciones en las que también la ACTH se eleva por ejemplo: esquila, transporte, electroinmovilización (Jephcott *et al.*, 1987), matanza (Fordham *et al.*, 1989) y aislamiento en oveja (Al-Gahitani y Rodway, 1991).

En bovinos no existen muchos reportes referentes a los neuropéptidos, aunque en un ensayo se midieron los constituyentes plasmáticos de 4 vacas, durante 48 horas, donde se valoraron las concentraciones plasmáticas basales de endorfinas, encefalinas y otros componentes plasmáticos (Ganhao *et al.*, 1985). Se encontraron variaciones individuales de las concentraciones de endorfinas y encefalinas, la medición de éstas puede ser una alternativa para futuras determinaciones de estados de estrés.

### 1.7.3 Respuesta inmune

En otros intentos de evaluación del estrés, se han correlacionado las respuestas leucocitarias y las concentraciones de fibrinógeno sanguíneo (Phillips, 1984; Sutton y Hobman, 1975). Algunos resultados hasta ahora obtenidos indican, que durante el estrés, la respuesta inmune y específicamente la respuesta blastogénica linfocitaria, decrecen, predisponiendo a los becerros a padecer enfermedades virales (Blecha, 1983; Blecha *et al.*, 1984); otros estudios informan que hay un incremento en los valores leucocitarios ante el estrés de transporte (Phillips, 1984).

Además, algunos autores han encontrado un aumento considerable en las concentraciones de fibrinógeno en animales sujetos a diferentes situaciones de estrés, aunque esta variable no puede ser por sí sola una buena indicadora de estrés (Phillips, 1984; Sutton y Hobman, 1975). Por otro lado, son muchos los efectos que produce el estrés y por ello la cuantificación del mismo ha seguido diversos caminos. Se sabe que la provocación constante de un estrés calificado como crónico, induce una disminución constante de las defensas humorales y celulares (Blecha, 1988; Griffin, 1989; Lee *et al.*, 1976), aunque hay evidencias que aseguran una respuesta al estrés con el efecto inicial opuesto (Griffin, 1989). Sin embargo, existen algunos ensayos en donde se han aplicado estímulos inductores de estrés, como sería el caso de la acupuntura, que provocan resultados aparentemente benéficos en animales en producción así como una mejoría evidente en la eficiencia reproductiva (Bachman, 1988; Hwang, 1988; Sumano *et al.*, 1989).

#### 1.7.4 Conducta

En algunos estudios se ha tratado de identificar los patrones conductuales relacionados con el estrés en bovinos (Dantzer y Mormede, 1983; Drenkard *et al.*, 1985). En estos ensayos se presentan algunas alteraciones de la rutina de los animales en hatos productivos como factores potenciales inductores de estrés (Hafez, 1975; Johnson y Vanjonank, 1976; Henry, 1985; Grandin, 1988) o bien, se prueban diferentes tipos de confinamiento y agrupaciones en los animales para determinar cual induce más estrés. Por ejemplo, Kondo *et al.*, (1983), registraron los cambios de actividad, los patrones de conducta relacionados con el entorno físico y la conducta social de 12 vacas lecheras después de ser dispuestas en dos grupos de 6. En el primer grupo las vacas estuvieron juntas por 153 horas y las del segundo grupo fueron dispuestas de dos en dos, y cambiadas de pareja cada tres días, hasta completar todas las combinaciones pares posibles para luego reagruparlas. Con esto, reportaron que las vacas que permanecieron juntas, mantenían una distancia inter-animal menor, existía más agregación, una menor pérdida de peso, y una cuantificación mayor de patrones agresivos totales que el segundo grupo. Es interesante

notar, que este último mostró una cuantificación de patrones agresivos totales menor, pero se incrementaron hasta 53 veces más en las primeras 24 h decreciendo días después.

En la mayoría de los casos, se tiende a clasificar los problemas de estrés de una manera subjetiva (Dantzer, 1986; Moberg, 1987). Kondo y Humik, (1988), realizaron un estudio en el que correlacionaban las conductas de vacas sometidas a estrés (un ambiente anormal), con las concentraciones de catecolaminas sanguíneas y la frecuencia cardíaca. Los resultados que reportan son que las concentraciones de catecolaminas y la frecuencia cardíaca aumentaban en las vacas sometidas a un ambiente adverso y patrones conductuales característicos como los movimientos de la cabeza horizontales y verticales.

#### 1.7.5 Proteínas del estrés

Se sabe que los cultivos de células animales de aves y mamíferos tienen la capacidad de adaptarse al estrés térmico, característica que se ha definido como termotolerancia (Harris, 1969; Besaude *et al.*, 1983; Scindra y Subject, 1984; Subject, 1986). Se piensa que esta capacidad de reaccionar al estrés térmico y la adquisición de una resistencia ante diversos AIE (incluyendo agentes infecciosos), son producidas por la inducción de la síntesis de diversos polipéptidos conocidos como proteínas del estrés. En cultivos celulares de mamíferos se ha descrito una gran variedad de proteínas del estrés que varían en sus pesos moleculares. Su síntesis es inducida por el choque térmico, la privación de glucosa y oxígeno así como por la exposición a algunas sustancias tóxicas (Collins y Hightower, 1982; Subject y Shyy, 1986; Keyse y Tyrrel, 1989). Aunque, hasta ahora, este tipo de estudios se llevan a cabo en cultivos celulares, son la pauta inicial para explicar los efectos del estrés y sus implicaciones fisiológicas a nivel molecular en las respuestas adaptativas de los animales. Además, estos descubrimientos ofrecen la posibilidad de tener un parámetro más para medir al estrés de una manera más objetiva.

Así pues, los antecedentes expuestos permiten detectar que existe un interés creciente, por parte de la comunidad científica para cuantificar el estrés. Por cuantificación deberá entenderse tanto la existencia misma de estrés en un animal o en una población como la magnitud del estrés. Las tendencias clásicas de medir cortisol, catecolaminas, ácido vanilmandélico y otras hormonas y metabolitos pueden ofrecer ahora algunos beneficios si los resultados obtenidos se correlacionan con la medición de las proteínas del estrés, elementos plasmáticos, péptidos opioides y con estudios etológicos formalizados. El beneficio inmediato se reflejará en una mejoría en los procesos productivos a través de un zootecnia basada no solo en la producción sino también en estudios etológicos y de cuantificación químicoanalítica del estrés (Caballero y Sumano, 1993), solo así se podrá entonces, inferir si realmente existe estrés en los animales.

## **2 HIPOTESIS GENERAL.**

Es posible cuantificar el estrés en bovinos en sistema de producción intensivo, mediante la correlación de las concentraciones de ácido vanilmandélico en orina, con los patrones conductuales y los parámetros productivos.

### **2.1 OBJETIVOS**

- Determinar las concentraciones basales de ácido vanilmandélico en bovinos Holstein hembra.
- Determinar las concentraciones basales de ácido vanilmandélico en bovinos F1 (Holstein/Cebú)
- Comparar las concentraciones basales de ácido vanilmandélico en bovinos Holstein hembra con las concentraciones basales de ácido vanilmandélico en bovinos F1 (Holstein/cebú)
- Cuantificar y comparar las concentraciones de ácido vanilmandélico en bovinos Holstein y F1 sometidos a estrés agudo.
- Cuantificar y comparar las concentraciones de ácido vanilmandélico en bovinos Holstein y F1 sometidos a estrés social y verificar su correlación con los patrones conductuales.

El esquema de los pasos a seguir para cubrir los objetivos de este trabajo se muestra en la Figura 9.

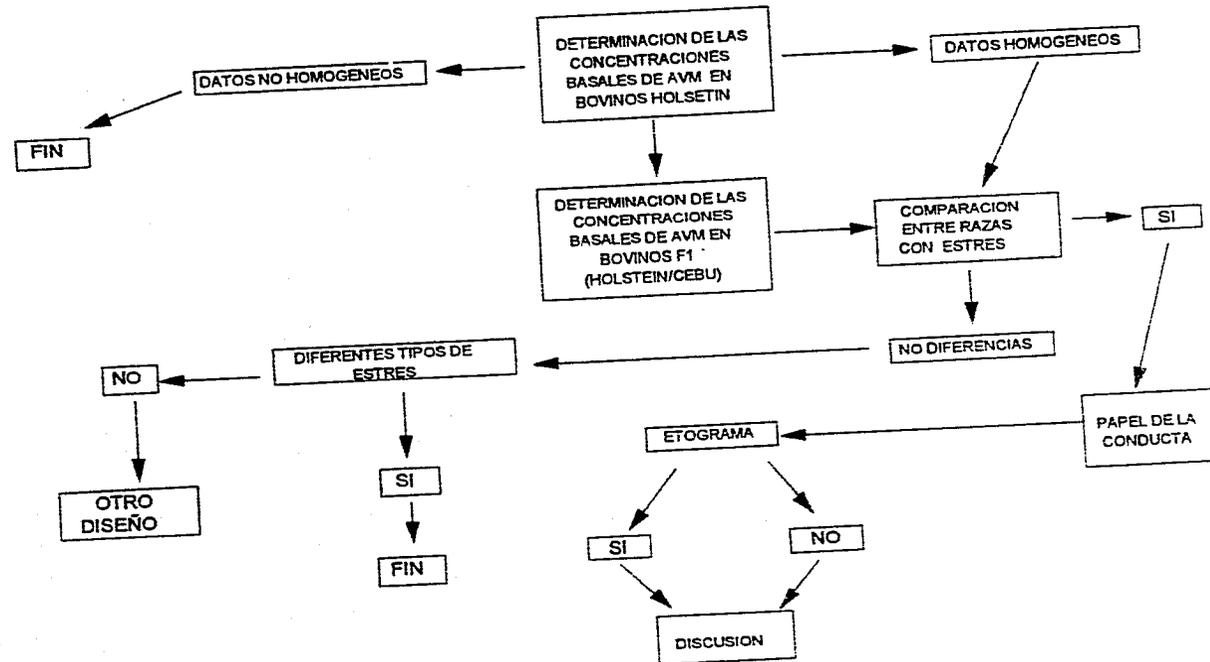


Figura 9. Diagrama del diseño experimental para determinar el estrés en bovinos.

## 2.2 DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES BASALES DE ÁCIDO VANILMANDELICO EN ORINA DE BOVINOS HOLSTEIN EN PRODUCCION.

### 2.2.1 Hipótesis

Existen valores detectables y constantes de AVM en orina de vacas Holstein en producción.

### 2.2.2 Objetivo.

Establecer los valores normales de AVM en la orina de vacas Holstein en producción.

### 2.2.3 Material y métodos.

Dado que en la literatura sólo existe un reporte sobre valores de ácido vanilmandélico en bovinos productores de leche, resulta necesaria la determinación de los mismos en vacas de hatos lecheros mexicanos, para determinar los valores basales.

El ensayo fue realizado en la Granja el Escudo, ubicada en el kilómetro 30 de la carretera México-Cuautla, en Ixtapaluca, Estado de México. Está situada en el altiplano a 2250 mts sobre el nivel del mar; la temperatura anual media es de 15.3 C y la precipitación pluvial es de 665.9 mm anuales con vientos dominantes de sur a norte. El sistema de alojamiento para los animales es de tipo estabulación libre con piso de tierra. En esta granja la rutina normal de manejo para los animales es la siguiente: Las vacas se ordeñan dos veces al día, una las 4 a.m. y otra a las 4 p.m. y reciben agua *ad libitum*. Antes de ser ordeñadas las vacas son dirigidas del establo a la sala de ordeño, ahí se les lavan las ubres y se les coloca el ordeñador automático. Las vacas que son primero ordeñadas son las de producción más alta, siguiendo las de más baja producción. El total de las vacas se ordeña en 3 horas. Después del ordeño se les saca al establo donde se les ofrece concentrado vaciado en los comederos por medio de tractor. Posteriormente, esta área se limpia con tractor y horas más tarde se les ofrece forraje verde. Este procedimiento se sigue las dos veces que se ordeñan y durante el día permanecen en el establo y los asoleaderos.

Se utilizaron 94 vacas Holstein de 2 a 11 años de edad, clínicamente sanas. A cada vaca se le tomó una muestra de orina en el momento de orinar en la sala de ordeña, colectándola en frascos de color ámbar (49 en la ordeña de la mañana y 49 en la ordeña de la tarde). Cada muestra de orina fue de 100 ml, fue colectada en frascos de color ámbar limpios y conservada con ácido clorhídrico 6 N al 10% y en congelación a 4 C. Las muestras se transportaron al laboratorio de determinación de AVM y fueron analizadas mediante la técnica modificada de Pisano *et al.*, (1962) que se describe en la Figura 10.

Se tomaron registros de edades y registros de pariciones. De acuerdo a los registros de producción de todas las vacas, se les clasificó en 3 niveles, con el fin de verificar si existía alguna variación de las concentraciones de AVM relacionadas con la producción:

Nivel 1. Bajas productoras <15 litros  
Nivel 2. Medianas productoras 15-24 litros  
Nivel 3. Altas productoras >24 litros

Con los resultados de mg de AVM/g de creatinina se determinó el valor medio, la desviación estándar. Los valores de ácido vanilmandélico/creatinina obtenidos de la orina de 94 vacas en producción (los niveles 1, 2 y 3).

#### 2.2.4 Análisis estadístico.

Para el análisis de los datos de las concentraciones de ácido vanilmandélico (AVM), primero se utilizó un modelo de efectos fijos que incluyó el nivel de producción (alta, mediana y baja) y la edad de la vaca como covariable (Milton, 1994).

El modelo se analizó mediante el método de cuadrados mínimos (Dawson-Saunders y Trapp, 1993) bajo el proceso GLM del programa de computación SAS (Cody y Smith, 1991). Para cumplir con el supuesto de normalidad de la variable AVM fue transformada en:

Arc Sen AVM= AVMT

$$IC: P\left(\bar{X} \pm Z_{\alpha/2} \frac{s}{\sqrt{n}}\right) = 1 - \alpha$$

donde:  $\bar{X}$  = media muestral

$Z_{\alpha/2}$  = es el valor de la normal estándar con  $\alpha = 0.05$  o  $0.01$

$\frac{s}{\sqrt{n}}$  = es el error estándar

Se eliminaron los datos aberrantes\* quedando  $n=83$  y se calcularon estadísticas descriptivas de media, mediana, límites máximos y mínimos, desviación estándar, varianza, rango e intervalo muestral.

#### 2.2.5 Resultados

Las concentraciones medias basales de AVM en orina de bovinos Holstein en los diferentes niveles de producción fueron los siguientes: Nivel 1= 6.32 mg de AVM/gr Cr; Nivel 2 = 7.37 mg AVM/Cr; Nivel 3= 7.07 mg AVM/Cr (Figura 11). Con la prueba de efectos fijos se realizó el análisis de varianza para AVMT del modelo; no se encontraron diferencias significativas entre los niveles de producción ( $p=0.41$ ). Tampoco hubo efecto lineal ni cuadrático de la edad ( $p=0.11$ ) (Tabla III).

Por lo anterior se decidió conjuntar los valores de los tres grupos de vacas para calcular el intervalo de confianza de la media, obteniéndose para una  $n=83$ , el intervalo muestral ( $\bar{X} \pm SD$ ) (Tabla IV).

---

\* Datos aberrantes: Son datos que se alejan de 3 o 4 desviaciones del resto de los valores absolutos por estándar (Draper y Smith, 1966).

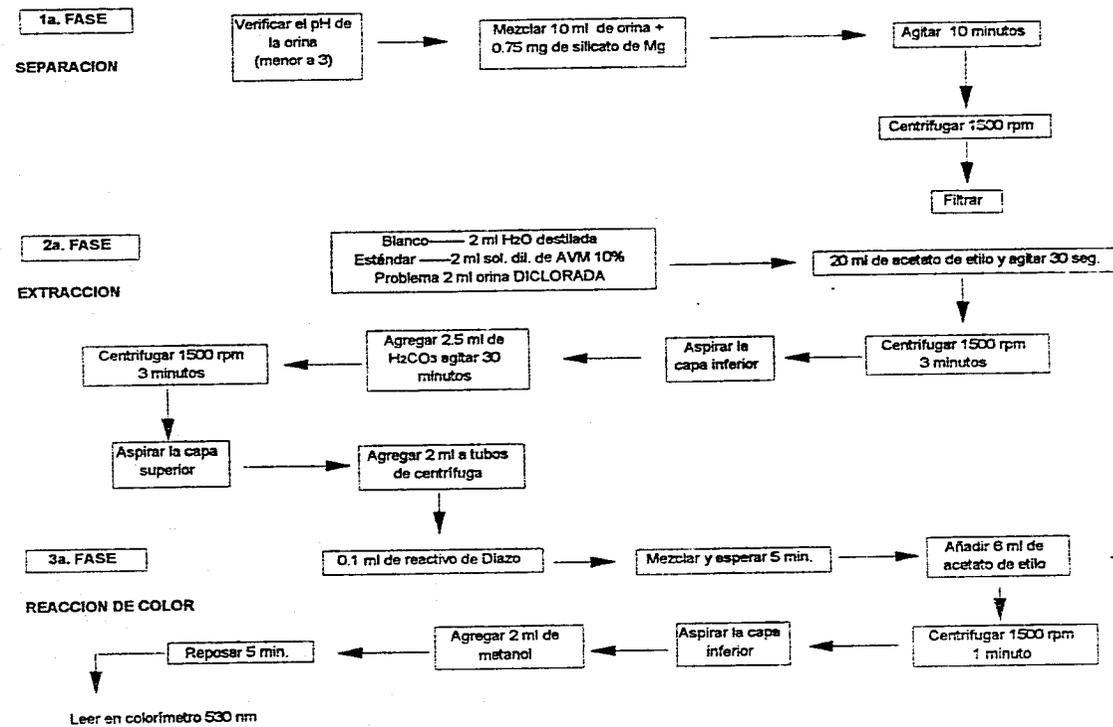
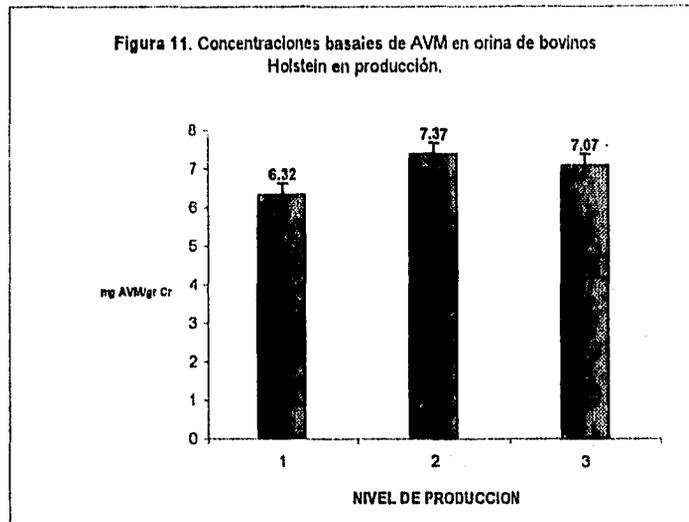


Figura 10. Diagrama que simplifica los pasos para determinar colorimétricamente al AVM.

**Figura 11. Concentraciones basales de AVM en orina de bovinos Holstein en producción.**



**Tabla III.** ANOVA para la variable AVMT, en bovinos Holstein.

<b>Origen de la variación</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>Promedio final</b>
<b>Nivel de producción</b>	0.002	0.41
<b>Edad</b>	0.0056	0.11
<b>Edad 2</b>	$5.7 \times 10^{-1}$	0.99
<b>Error</b>	0.0022	

**Tabla IV.** Estadísticas descriptivas para la variable AVM muestral en bovinos Holstein en producción.

n	$\bar{X}$ (mg AVM/gr Creatinina)	Min	Máx	Mediana	Varianza	SD	Intervalo muestral ( $\bar{X} \pm SD$ )
83	7.006	3.14	14.6	6.64	6.1533	2.48	4.52-9.48

#### 2.2.6 Discusión.

Es sabido que ante la presencia de estrés agudo, las catecolaminas sanguíneas tienden a incrementar sus concentraciones en sangre (Boer *et al.*, 1986), por lo que sus metabolitos urinarios pueden servir de indicadores de estados de estrés (Rakes, 1987). Sin embargo, hasta el momento existen pocos trabajos donde se ha reportado la presencia de este metabolito en condiciones de estrés (Savio *et al.*, 1976; Payne *et al.*, 1992; Strasser *et al.*, 1993).

En este ensayo se evaluó la presencia de ácido vanilmandélico (AVM) urinario en un grupo de 94 bovinos Holstein clínicamente sanos, en producción, con el propósito de verificar si las concentraciones de este metabolito eran medibles y de obtener un parámetro basal predecible que posteriormente pudiera servir como indicador de la presencia de estrés en bovinos. Los resultados obtenidos revelan que el AVM urinario es medible si se estandariza con las concentraciones de creatinina, también se aprecia que no existen diferencias significativas con respecto a la edad, nivel de producción y número de partos. Sin embargo la distribución de los valores muestrales no se comportaron de manera normal, por la existencia de once valores aberrantes, que fueron eliminados por regla estadística ya que eran mayores de la media muestral 3 a 4 veces. No obstante, la presencia de éstos pueden proveer información que sería interesante analizar como hechos aislados (Draper y Smith, 1966). Un hecho avala lo antes expuesto, es que la información que brindaban los registros del rancho era que de los animales que presentaron los valores más elevados, algunos fueron enviados a rastro por presentar problemas reproductivos como abortos constantes e infertilidad, probablemente debidos a estrés.

Strasser *et al.*, en 1993, realizan mediciones en orina de los metabolitos catecol e indol-amina en 73 bovinos, cuyas concentraciones fueron estandarizadas con las concentraciones de creatinina urinaria y reportan que según el patrón de secreción de estos metabolitos pueden servir para uso

diagnóstico, desórdenes neurológicos y estrés. Estos autores reportan un factor adicional interesante, por ejemplo, mencionan que en toros, las concentraciones de ácido 5-hidroxi-indolacético (otro derivado de las catecolaminas) pueden presentar diferencias entre razas y pueden ser claramente correlacionadas con la conducta.

Finalmente en este trabajo se sugiere que las mediciones de las concentraciones de AVM urinario en bovinos en producción, son medibles y que sobre éstas no existen influencias asociadas con el estado productivo.

## 2.3 OBTENCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES BASALES DE ÁCIDO VANILMANDELICO EN ORINA DE BOVINOS F1 (HOLSTEIN/CEBÚ)

### 2.3.1 Hipótesis

Existen valores detectables y constantes de AVM en orina de bovinos F1 (Holstein/Cebú)

### 2.3.2 Objetivo.

Establecer los valores normales de AVM en la orina de bovinos F1 (Holstein/Cebú).

### 2.3.3 Material y métodos.

Con el motivo de verificar si existen diferencias entre las concentraciones de AVM en bovinos Holstein y otras razas de bovinos, se procedió a realizar muestreos de orina de bovinos F1 (Holstein/Cebú). Se utilizaron 15 bovinos F1 (Holstein/Cebú), con una edad promedio de 6 años de edad, procedentes del Centro de Enseñanza Prácticas Investigación y Extensión en Rumiantes (C.E.P.I.E.R.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ubicado en el km 28 de la carretera México-Cuernavaca, en Topilejo, D.F., situada a 2360 mts s.n.m., con una temperatura media anual de 15.2 C y una precipitación pluvial de 680 mm anual y vientos dominantes al noroeste.

A cada vaca se le tomó una muestra de orina de 100 ml, que fue colocada en frascos ámbar de vidrio y conservada con ácido clorhídrico 6N al 10% y en congelación. Se procedió a determinar las concentraciones de AVM en las muestras mediante la técnica modificada de Pisano *et al.*, (1962) descrita anteriormente.

### 2.3.4 Análisis estadístico

Se realizaron estadísticas descriptivas tanto gráficas como numéricas eliminando los datos aberrantes. Además, se hicieron pruebas de normalidad de Shapiro Wilks (Milton, 1994), para obtener intervalos de confianza para la media poblacional al 95 y 99%.

### 2.3.5 Resultados

De acuerdo con el número de datos manejado ( $n=13$ ) y las pruebas estadísticas aplicadas, se determinó que estos cumplen con los supuestos de normalidad. Las estadísticas descriptivas para los valores de AVM urinario son las siguientes: media= 1.65 mg AVM/g Creatinina, varianza= 0.32 y error estándar 0.16 (Tabla V) (Steel y Torri, 1989), con los cuales se pudieron obtener los intervalos de confianza para la media poblacional al 95 y 99%, que fueron de  $6.18 \pm 0.34$  y  $6.18 \pm 0.48$ , respectivamente (Tabla VI). En la Figura 12 se muestra la diferencia entre los valores medios basales de ácido vanilmandélico para bovinos Holstein que producen menos de 15 lbs. al día y bovinos F1 (Holstein/Cebú).

### 2.3.6 Discusión

Una vez determinados los valores basales de AVM para bovinos Holstein, se procedió a verificar si las concentraciones de AVM eran medibles en otras razas de bovinos. Se muestrearon 15 bovinos F1 (Holstein/Cebú), que es una raza híbrida y en la cual se esperaba obtener un valor basal estimable quizá más elevado debido al temperamento agresivo y poco manejable la raza F1. De acuerdo con los resultados se encontró que los valores de AVM son cuantificables por lo que se determinaron intervalos de confianza al 95 y 99%.

En este ensayo lo sorprendente fue que, a diferencia de lo que se esperaba, las concentraciones de AVM, en la raza F1 (Holstein/Cebú) en relación con las concentraciones de AVM en bovinos Holstein del nivel 1, son apreciablemente menores en un 73.8%. Es probable la existencia de diferencia en las concentraciones de AVM en bovinos de diferentes razas, sin que necesariamente exista estrés. Por otro lado, apoyando de alguna manera a este punto, Payne *et al.*, 1992, informan de la existencia de diferencias en las concentraciones de AVM en dos razas de ovejas y sugieren que las diferencias en la producción de noradrenalina pueden contribuir a las diferencias en la composición corporal entre razas.

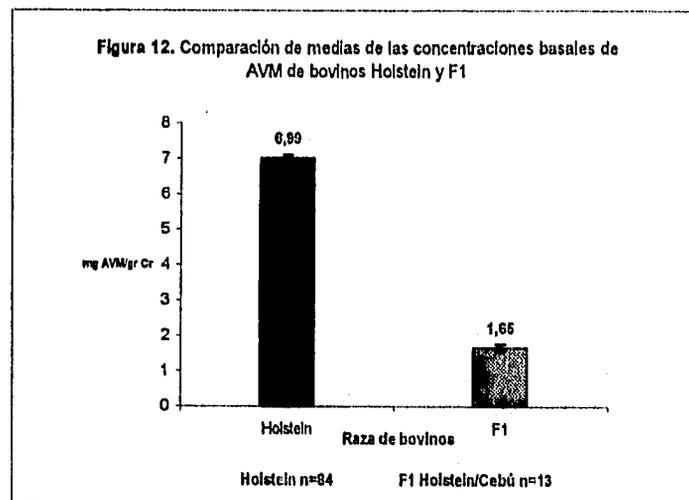
**Tabla V.** Estadísticas descriptivas de las concentraciones basales de AVM para bovinos F1 (Holstein/Cebú).

No. de observaciones	Media	Varianza	Error Estándar
13	1.65	0.32	0.16

**Tabla VI. Intervalos de confianza para la variable AVM en bovinos F1.**

No. de observaciones	Media	1- $\alpha$			
		0.95		0.99	
		LINF	LSUP	LINF	LSUP
13	1.65	1.31	1.99	1.17	2.12

**Figura 12.** Comparación de medias de las concentraciones basales de AVM de bovinos Holstein y F1



## **2.4 DETERMINACIÓN DE LOS VALORES DE ÁCIDO VANILMANDELICO EN ORINA DE BOVINOS F1 (HOLSTEIN /CEBÚ) Y HOLSTEIN EXPUESTOS A ESTRES AGUDO MEDIANTE DOS METODOS DE SACRIFICIO: PUNTILLA Y PISTOLA DE PERNO CAUTIVO**

### **2.4.1 Hipótesis**

Existen diferencias cuantitativas sobre las concentraciones de AVM en orina de bovinos F1 (Holstein/cebú) y Holstein de desecho sacrificados con puntilla y pistola de perno cautivo.

### **2.4.2 Objetivo**

Determinar si existen diferencias cuantitativas entre las concentraciones de AVM en orina de bovinos F1 (Holstein/Cebú) y Holstein sacrificados con puntilla y pistola de perno cautivo, así como comparar las diferencias de las concentraciones de AVM entre razas.

### **2.4.3 Material y métodos**

Se seleccionaron 60 bovinos F1 (H/C), provenientes del Estado de Puebla y 20 bovinos de desecho de raza Holstein, provenientes de la granja El Escudo, ubicada en el Estado de México. A ambos grupos se les dividió en dos subgrupos y se les sometió a dos tipos de sacrificio diferentes Grupo=1 sacrificio con puntilla y Grupo 2= sacrificio con pistola de perno cautivo. Para identificar a los sugrupos de diferente raza se denominaron de la siguiente forma:

**Bovinos F1 (Holstein/Cebú) = Grupo A**

Subgrupo 1A = Sacrificio con puntilla

Subgrupo 2A = Sacrificio con pistola

**Bovinos Holstein= Grupo B**

Subgrupo 1B = Sacrificio con puntilla

Subgrupo 2B = Sacrificio con pistola

Una vez sacrificados, se procedió a tomar muestras de 100 ml de orina directamente de la vejiga, que fueron colocadas en frascos ámbar de vidrio y conservadas con ácido clorhídrico 6N al 10% y en congelación. Se procedió a determinar las concentraciones de AVM en las muestras mediante la técnica modificada de Pisano *et al.*, (1962), descrita anteriormente.

#### 2.4.4 Análisis estadístico.

Se realizaron estadísticas descriptivas numéricas. Además se realizó una prueba de análisis de varianza para la variable AVM en los dos tratamientos (puntilla y pistola) de ambos grupos. En el caso particular del Grupo A se realizó una prueba de T de Student para verificar la diferencia entre medias de los distintos tratamientos. Se realizó la prueba de análisis de varianza (Milton, 1994), que incluyó grupo, tratamiento y la interacción entre ambos, con la idea de verificar si existían diferencias entre las concentraciones de AVM.

#### 2.4.5 Resultados.

Después de eliminar los datos aberrantes, se realizaron las estadísticas descriptivas de las concentraciones de AVM encontradas en los bovinos F1 y Holstein que se muestran en las Tablas VII y VIII respectivamente. Con la idea de verificar si existían diferencias entre las concentraciones de AVM en los dos grupos con el mismo tratamiento se realizó la prueba de análisis de varianza (Milton, 1994) en la que se encontraron diferencias altamente significativas ( $p < 0.01$ ) entre los subgrupos 1A y 2A y ( $p < 0.01$ ) y los subgrupos 1B y 2B . Dado que en el grupo A se presentaron datos aberrantes: 6 para el subgrupo 1A y 2 para el subgrupo 2A, el total de datos se redujo a 24 y 28 respectivamente. Para el grupo A se realizó la prueba de T de Student encontrando diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ). El coeficiente de variación fue de 51.38 % y 61.98 % para el grupo 1A y 1B respectivamente. En la Figura 13 se presenta la esquematización de las diferencias entre las concentraciones de AVM entre los grupos de bovinos Holstein y Holstein/Cebú (F1).

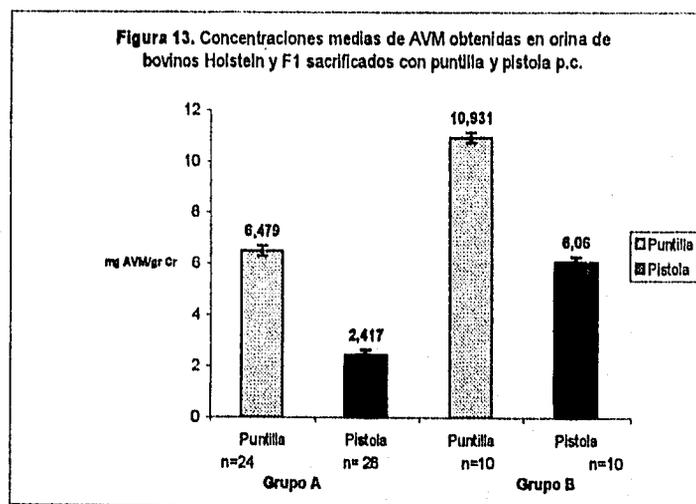
**Tabla VII.** Estadísticas descriptivas de las concentraciones de AVM encontradas en el Grupo A con diferentes tipos de sacrificio.

Subgrupo	No. observaciones	Media	Desviación estándar	Error estándar
1A	24	6.479	3.332	0.493
2A	28	2.417	0.897	0.191

**Tabla VIII.** Estadísticas descriptivas de las concentraciones de AVM encontradas en el Grupo B con diferentes tipos de sacrificio.

<b>Subgrupo</b>	<b>No. observaciones</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Error estándar</b>
<b>1B</b>	10	10.931	2.3	0.727
<b>2B</b>	10	6.06	2.249	0.711

**Figura 13.** Concentraciones medias de AVM obtenidas en orina de bovinos Holsteln y F1 sacrificados con puntilla y pistola p.c.



#### 2.4.6 Discusión.

En este ensayo se tomó en consideración que el modelo de estrés que induce el procedimiento de matanza con diferentes métodos (puntilla y pistola de perno cautivo), podría ser el más representativo para determinar si la medición de las concentraciones de AVM pudieran servir como indicadores de estrés agudo, en animales de razas diferentes: F1 (Holstein/Cebú) y Holstein. Los resultados fueron evidentes en cuanto a las diferencias sobre las concentraciones de AVM presentadas entre los dos sistemas de sacrificio y raza. Se tomó la determinación de eliminar datos aberrantes en el grupo de bovinos F1 (Holstein/Cebú) sacrificado con puntilla, debido a que alteraban los valores medios. Sin embargo, la presencia de estos datos aberrantes, puede ser el reflejo de un hecho aislado que le ocurrió al segundo bovino F1 durante la matanza, ya que en el momento en que le fue aplicada la puntilla, éste cayó al piso, pero unos segundos después se levantó y corrió, mientras los trabajadores del rastro hacían el intento de atraparlo, los otros animales esperaban y presenciaban el hecho, que duró aproximadamente 15 minutos. Esta observación nos permite pensar que pudiese existir una relación concreta entre conducta y concentraciones urinarias de AVM (Garvey *et al.*, 1995) y que la medición de las concentraciones de AVM pueden ser un buen indicador de estrés agudo. Aunque se requieren estudios adicionales, es importante contemplar la posibilidad de que este método valide la medición de AVM como un detector de estrés agudo que puede tener utilidad, no sólo a nivel de investigación sino también como control de los sistemas de sacrificio en rastos.

## **2.5 DETERMINACIÓN DE LA CORRELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE ÁCIDO VANILMANDELICO URINARIO Y LOS PATRONES DE COMPORTAMIENTO INTERACTIVO EN DOS GRUPOS DE BOVINOS HOLSTEIN EXPUESTOS A ESTRÉS SOCIAL.**

### **2.5.1 Hipótesis**

Existen diferencias cuantitativas de las concentraciones de AVM en dos grupos de bovinos Holstein expuestos a estrés social, así como una correlación con el peso y los patrones conductuales.

### **2.5.2 Objetivos**

Cuantificar y comparar las concentraciones de ácido vanilmandélico en bovinos Holstein expuestos a estrés social y verificar su correlación con el peso y los patrones conductuales sociales.

### **2.5.3 Material y métodos**

#### **a) Ubicación y sujetos.**

Se realizó un estudio sobre la influencia del estrés social en 10 vacas secas raza Holstein provenientes del Centro de Mejoramiento Genético LICONSA, localizado en el km 44 de la autopista, México-Querétaro, Tepetzotlán Edo. de México. Los animales se encontraban estabulados en corrales abiertos de 6 por 12 mts., con área de sombra. La alimentación era en base a avena seca y agua *ad libitum*.

Los animales tenían aproximadamente entre 4-6 años de edad y un peso variable de los 500 a los 839 kg. Se formaron dos grupos de cinco animales cada uno. El Grupo A se formó con 5 animales tomados al azar que provenían de un solo corral; mientras que el Grupo B se formó con animales tomados al azar que provenían de corrales diferentes. A los animales de ambos grupos se les registraron los pesos y se les tomaron muestras de orina al inicio y al final de las observaciones, para medir las concentraciones de AVM.

**b) Procedimiento y observación**

Se realizó un muestreo *ad libitum* para poder obtener las conductas que se incluyeron en la hoja de registro (Apéndice I). La cual sirvió para registrar la frecuencia de presentación de las conductas sociales.

Se realizaron muestreos focales con registros continuos utilizando la hoja de registro y filmación con videograbadora, bajo el siguiente esquema de observación:

Horario de observación: 9-13 horas

Horas de observación/día: 5 horas por grupo

Días de observación: 6 días

Total de horas de observación por grupo: 20 horas

Total de horas de observación por individuo: 2 horas, distribuidas de la siguiente forma:

1 hora de filmación/ animal repartida en 6 días

1 hora de observación en hoja de registro repartida en 6 días.

Durante los periodos de observación, el observador permaneció siempre en el mismo lugar de observación, aproximadamente a 5 metros del local de observación, en un lugar donde apreciará visualmente a todos los animales y los lugares donde estos se desplazaban.

**c) Conducta**

Los patrones sociales de conducta observados en bovinos Holstein se dividieron de la siguiente manera: Conductas agonistas: Estas conductas son parte de los patrones sociales observados en bovinos Holstein, que incluyen dos grupos característicos de conductas interactivas: el trinomio agresión-sumisión-evasión.

El etograma utilizado incluye las siguientes categorías de comportamiento social, que incluye todas las interacciones entre los individuos que integran al grupo.

Las interacciones sociales pueden ser de tipo afiliativo, por ejemplo, el olfateo y el acicalamiento mutuo que juega un papel muy importante en el mantenimiento de la estructura del grupo y el reconocimiento individual. El lamido mutuo es determinado por la jerarquía social y por la familiaridad entre individuos; los sumisos tienden a dirigir acicalamiento hacia los dominantes, presentando la cabeza baja y el cuello extendido, para posteriormente lamer al otro individuo. Dicha acción, está correlacionada positivamente con la alta producción de leche (Sato, 1993).

Existen también las conductas relacionadas con la facilitación social o el apoyo entre los miembros del grupo para defender su territorio, defenderse contra predadores, reconocimiento entre individuos, entre otras (Zayan y Dantzer, 1990). La facilitación social se podrá medir por la sincronía en el comportamiento de todo el hato (Galindo, 1994).

Las conductas de tipo agonista, relacionadas con el trinomio agresión-sumisión-evasión, que son todas aquellas conductas que indiquen conflicto social. El establecimiento de la jerarquía o dominancia se realiza a través de encuentros agresivos. En los bovinos, que son animales gregarios por naturaleza, los encuentros agonísticos por lo general se caracterizan por presentar peleas ritualizadas a través de la manifestación de ciertas posturas y movimientos corporales de contacto en los que no existe daño físico. De estas conductas se pueden incluir la amenaza al oponente, que se caracteriza por la presentación frontal con la cabeza perpendicular a la tierra; golpe con la cabeza a diferentes partes del cuerpo, en las que el animal de menor jerarquía tenderá a retirarse. Las conductas sumisivas incluyen la presentación de la cabeza extendida horizontalmente; huir ante la agresión y evitar la agresión, entre otras.

A continuación se describen las categorías de comportamiento agresivo y de evasión que pueden presentarse tanto en el emisor como en el receptor de una interacción:

<u>Nombre de la conducta</u>	<u>Descripción</u>
<b>AGRESIÓN</b>	
Amenaza en locomoción	El animal se desplaza en dirección hacia otro individuo o grupo de animales, con la cabeza perpendicular a la tierra.
Amenaza en estática	El animal se encuentra estático parado con los miembros delanteros ligeramente abiertas, bajando la cabeza y sosteniéndola en posición perpendicular al piso amenazando a otro.
Topeteo al flanco	Un animal golpea con la cabeza la zona del flanco de otro.
Topeteo frontal	Los animales se golpean mutuamente la parte frontal de la cabeza entre sí.
Empujar miembros con cabeza	Un individuo se abre paso entre un grupo de animales bajando la cabeza y empujando los miembros anteriores o posteriores de otros animales.
Empujar otras partes de cuerpo con la cabeza	Un individuo empuja el cuello o el flanco de otros individuos para abrirse paso entre los miembros de un grupo.
<b>SUMISIÓN</b>	
Evasión con contacto	El animal permite que lo quiten del paso sin oponer resistencia.
Evasión sin contacto	El animal se retira antes de que se presente el contacto directo por parte de otro animal
Huida	Al sentir amenaza directa el individuo se retira precipitadamente

c) Cálculo de índices interactivos.

Con la intención de obtener un parámetro indicativo de la experiencia de cada individuo en las diferentes fases de interacciones sociales se calcularon los índices de agresión, sumisión y evasión, para cada vaca del experimento (Galindo, 1994).

$$\text{Índice de Agresión} = \frac{\text{No. de veces que la vaca emite agresión}}{\text{No. de veces emite agresión} + \text{no. de veces que recibe agresión}}$$

$$\text{Índice de Evasión} = \frac{\text{No. de veces que la vaca hace conductas de huida y evasión sin contacto}}{\text{No. de veces que emite agresión} + \text{no. de veces que emite las conductas de huida y evasión sin contacto}}$$

$$\text{Índice de Sumisión} = \frac{\text{No. de veces que la vaca recibe agresión}}{\text{No. de veces que emite agresión} + \text{no. de veces que recibe agresión}}$$

El valor de los índices abarca un rango que a de 0 a 1.

#### 2.5.4 Análisis estadístico

Se realizaron estadísticas descriptivas para los valores de los pesos iniciales y finales y de las concentraciones urinarias de AVM inicial y final. Para estos valores se aplicó la prueba de Wilcoxon. Los resultados de los índices de agresión, sumisión, evasión mediante la prueba de U de Mann-Witney (Dawson-Saunders y Trapp, 1993). Los valores de los índices de agresión, evasión y sumisión se correlacionaron con los valores de AVM final y pérdida peso mediante la prueba de correlación de Pearson (Dawson-Saunders y Trapp, 1993). Los valores de probabilidad de las pruebas utilizadas se consideraron  $p < 0.01$  altamente significativas y  $p < 0.05$  significativas.

### 2.5.5 Resultados

En el grupo A, compuesto por 5 vacas que provenían de un mismo hato, los valores medios de peso inicial y final, fueron de 703.6 kg y 701.4, respectivamente, con una diferencia de 2.2 kg; los valores medios de las concentraciones urinarias iniciales y finales de AVM fueron de 7.438 y 9.64 mg AVM/kg Cr, respectivamente (Tabla IX). En el grupo B, compuesto por los animales que provenían de diferentes hatos, los valores medios de peso inicial y final, fueron de 703.2 kg y 702, respectivamente, con una diferencia de 1.2 kg; los valores medios de las concentraciones urinarias iniciales y finales de AVM fueron de 9.45 y 10.04 mg AVM/kg Cr, respectivamente (Tabla X). Las variaciones entre los pesos y las concentraciones urinarias iniciales y finales de AVM, entre los individuos de cada grupo no fueron significativas. En la Figura 14 se muestra la relación entre los pesos iniciales y finales de los miembros de los grupos A y B, donde En la Figura 15 se muestra la relación entre los valores de AVM iniciales y finales de cada uno de los miembros de los grupos A y B.

Las estadísticas descriptivas para las concentraciones de AVM inicial de los grupos A y B fueron: promedio 7.438, 9.45 mgAVM/gr Creatinina, la desviación estándar fue de 1.109, 1.095 y el error estándar fue de 0.496, 1.298, respectivamente. Para AVM final de los grupos A y B fueron: promedio 9.64, 10.04 mg AVM/gr Creatinina; la desviación estándar fue de 2.903, 1.66 y el error estándar fue de 0.49, 0.744, respectivamente (Tabla XI).

Para verificar si entre los valores medios de AVM para los grupos A y B existían diferencias significativas se recurrió a la prueba pareada de Wilcoxon (Milton, 1994). Tales resultados revelan que no existen diferencias significativas en los valores finales de AVM de los grupos A y B.

Los resultados de los índices de agresión, sumisión y evasión para cada una de las vacas que conforman los grupos A y B se muestran en las Tablas XII y XIII, respectivamente. Los valores medios de los índices de agresión, evasión y sumisión fueron en los dos grupos cercanos a 0.5 y se muestran en la Tabla XIV. En los grupos A hubo algunos individuos (bovinos 1A,2A y 1B) en los que el índice de agresión fue más cercano a uno, mientras que los índices de evasión y sumisión fueron más cercanos a cero. En otros individuos (4A y 5B) existió el caso contrario el índice de sumisión fue más cercano a 1, el índice de agresión es más cercano a 0. Otra situación fue evidente, las vacas restantes de ambos grupos en algunos casos presentaron un aparente equilibrio entre los índices de agresión, evasión y sumisión (5A, 2B y 3B). Sólo un individuo del grupo A (3A) mostró un índice de evasión elevado, mientras que los índices de agresión y sumisión eran más cercanos a 0.5 (Figura 16). Para verificar si existía una relación entre los índices interactivos con las concentraciones de AVM se recurrió a la realización de la prueba de correlación de Pearson. Los resultados de la correlación de Pearson (Dawson-Saunders y Trapp, 1993) fueron: para el índice de agresión  $r = -0.42$ ,  $p > 0.05$  y  $n = 10$ ; índice de sumisión  $r = 0.42$ ,  $p > 0.05$  y  $n = 10$ ; índice de evasión  $r = 0.37$ ,  $p > 0.05$  y  $n = 10$ . Estos resultados revelan que no existe relación baja entre los índices de agresión y sumisión con respecto a los valores de AVM F. La prueba de correlación de Pearson también se aplicó para verificar la relación entre la pérdida de peso con las concentraciones de AVMF, donde existió una correlación significativa entre la pérdida de peso y los valores de AVM F ( $r = -0.73$ ,  $p < 0.05$  y  $n = 10$ ). En la Tabla XV se muestra el análisis de correlación de Pearson, donde se sometieron a prueba las siguientes variables: AVM F (concentraciones de AVM finales) con los índices de agresión, evasión y sumisión y AVM F (concentraciones de AVM final) con Pérdida de peso (Peso final - Peso Inicial).

**Tabla IX.** Registro de pesos y valores de las concentraciones de AVM iniciales y finales del grupo A.

No. de vaca	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Concentraciones de AVM iniciales (mg /g creatinina)	Concentraciones de AVM finales (mg/ g creatinina)
611	751	751	6.65	7.76
794	765	765	5.99	6.34
324	640	638	8.27	10.7
131	654	649	8.65	13.9
530	708	704	7.63	9.50

**Tabla X.** Registro de pesos y valores de las concentraciones de AVM iniciales y final del grupo B.

No. vaca	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Concentraciones de AVM iniciales (mg/g creatinina)	Concentraciones de AVM finales (mg/g de creatinina)
1B	691	695	9.15	9.5
2B	540	540	9.62	8.45
3B	720	713	10.13	12.05
4B	716	713	10.6	11.56
5B	849	849	7.75	8.66

Figura 14. Pesos Iniciales y finales de los bovinos de los grupos A y B

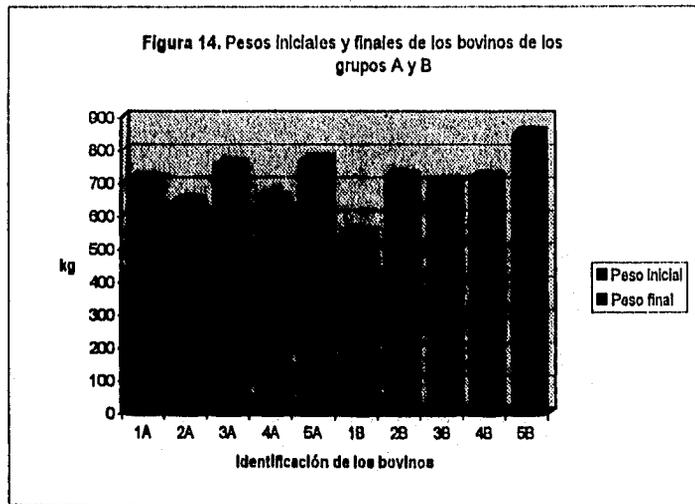
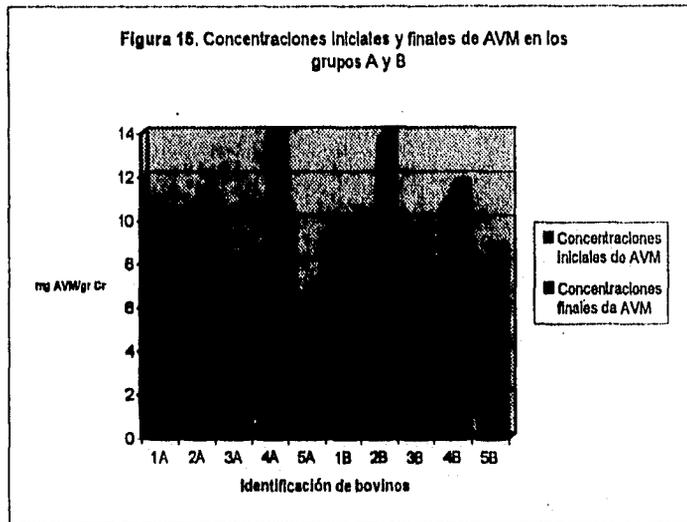


Figura 15. Concentraciones Iniciales y finales de AVM en los grupos A y B



**Tabla XI.** Estadísticas descriptivas de las concentraciones de AVM inicial y final de los grupos A y B

<b>Estadísticas descriptivas</b>	<b>Grupo A</b>	<b>Grupo B</b>
$\bar{X}$ AVM inicial (mg AVM/gr Creatinina)	7.438	9.45
Desviación estándar	1.109	1.095
Error estándar	0.496	1.298
$\bar{X}$ AVM final (mg AVM/gr Creatinina)	9.64	10.04
Desviación estándar	2.903	1.66
Error estándar	0.49	0.744

**Tabla XII.** Valores de los índices de agresión, evasión y sumisión obtenidos en el grupo A.

No. de vaca	1A	2A	3A	4A	5A
<b>LA.</b>	0.88	0.81	0.42	0.18	0.416
<b>LE.</b>	0.09	0.16	0.8	0.73	0.55
<b>LS.</b>	0.11	0.18	0.57	0.81	0.58

**Tabla XIII.** Valores de los índices de agresión, evasión y sumisión obtenidos en el grupo B.

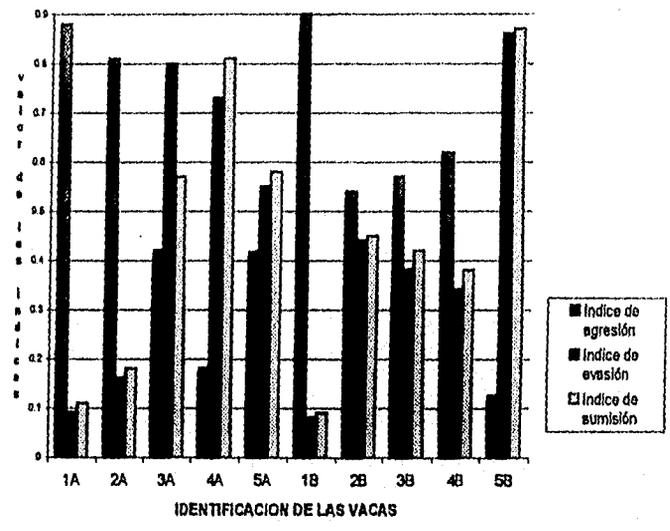
No. de vaca	1B	2B	3B	4B	5B
LA.	0.9	0.54	0.57	0.62	0.125
LE.	0.08	0.44	0.38	0.34	0.86
LS.	0.09	0.45	0.42	0.38	0.87

**Tabla XIV. Valores medios de los índices de agresión, evasión y sumisión de los grupos A y B.**

<b>Tipo de Índice</b>	<b>Valores medios</b>	
	<b>Grupo A</b>	<b>Grupo B</b>
<b>Índice de agresión</b>	0.54	0.55
<b>Índice de evasión</b>	0.46	0.42
<b>Índice de sumisión</b>	0.45	0.44

ESTA TESIS DE BEBE  
SOLAN DE LA UNIVERSIDAD

Figura 16. Histograma de los valores de los índices Interactivos de los miembros de los grupos A y B.



**Tabla XV. Resultados de la prueba de correlación de Pearson de las variables Índices de agresión, evasión y sumisión, AVM Iniciales, Pérdida de peso con AVM Finales.**

<b>Variable</b>	<b>r (Coeficiente de correlación)</b>	<b>pr</b>	<b>IR/</b>	<b>Significancia</b>
<b>Índice de agresión</b>	- 0.42	0.22		No Significativo
<b>Índice de sumisión</b>	0.42	0.22		No Significativo
<b>Índice de evasión</b>	0.37	0.29		No Significativo
<b>Pérdida de peso</b>	-0. 73	0.01		Altamente significativo

pr IR/= probabilidad del coeficiente de correlación

**Apéndice I. Hoja de registro utilizada para integrar las frecuencias de presentación de las conductas sociales de las vacas.**

**HOJA DE REGISTRO**

FECHA \_\_\_\_\_

HORA \_\_\_\_\_

VACA \_\_\_\_\_

**FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN**

	10'	20'	30'	40'	50'	60'
<b>PATRONES SOCIALES</b>						
<b>Conductas agresivas</b>						
10 Amenaza en locomoción						
11 Amenaza en estática						
12 Topeteo al flanco						
13 Topeteo frontal						
14 Empujar miembros con cabeza						
15 Empujar otras partes de cuerpo con la cabeza						
<b>Conductas sumisivas</b>						
21 Evasión con contacto						
22 Evasión sin contacto						
23 Huida						

### 2.5.6 Discusión

En este ensayo se correlacionó el comportamiento interactivo de vacas lecheras con una variable fisiológica, a fin de contribuir a la caracterización de estrés social. El grupo A fue conformado por 5 animales que provenían de un solo hato y el grupo B por 5 animales que provenían de hatos diferentes. Se obtuvieron los índices de agresión, sumisión y evasión para tener un parámetro que midiera la experiencia de cada individuo en diferentes tipos de interacción social. Posteriormente, se llevó a cabo un estudio de correlación de Pearson para evaluar la relación conducta-concentraciones de AVM final. Los resultados de la correlación indican que la conducta no parece ser determinante con los valores finales de AVM F. Sin embargo, parece existir cierta tendencia a la correlación entre los índices de agresión, evasión y sumisión, con respecto al AVM F de donde es observable la tendencia sobre:

- a) El índice de agresión: a mayor índice de agresividad el valor de AVM F es menor.
- b) El índice de sumisión: a mayor índice de sumisión el valor de AVM F es mayor.

Sin embargo, estos valores no son significativos, por lo que se considera que los valores de los índices conductuales no son determinantes sobre las concentraciones de AVM F, bajo las condiciones de observación de este estudio. Es probable que la duración del experimento y el tiempo de observación utilizados para la realización del mismo no hayan sido suficiente como para revelar datos más significativos. Por ejemplo, Galindo (1994), en sus estudios sobre etología en bovinos, sugiere tiempos de observación directa de hasta 24 horas durante 8 días consecutivos, con la finalidad de observar todos los cambios conductuales presentes durante el día y simultáneamente una observación indirecta de 72 horas. Por otro lado, la falta de datos significativos referentes a la correlación entre las concentraciones de AVM y conducta, es posible que no sean debido a que la densidad de población en los grupos A y B no era alta. Otra razón puede ser la latencia de

observación postreagrupación. Aunque según Mormede (1990), los efectos agudos de la reagrupación pueden persistir las primeras 72 horas. El estrés social se asocia a la alta densidad de población y a la presencia de individuos extraños (Zayan, 1990). En lo correspondiente a la presencia de individuos extraños, en el Grupo B, se esperaba que existiera una diferencia entre patrones agonísticos y una elevación más evidente de AVM, con respecto al Grupo A. embargo, no se apreciaron diferencias significativas entre grupos. Según Fraser y Rushen (1987), resulta conocido que la mezcla de conspecíficos que no se conocen entre sí induzca agresión recíproca y que esas peleas aumentan la respuesta de la glándula adrenal con la producción de catecolaminas y corticosteroides, no observadas en este ensayo, pues probablemente las jerarquías se establecieron más rápido de lo esperado por ser pocos animales. Además, se ha sugerido que el agente inductor de estrés en bovinos es la mezcla de individuos no familiares, ya que las peleas se intensifican por la falta de predicción (Fraser y Rushen, 1987). Se piensa que la mezcla de individuos que no se conocen, causa estrés social, la familiaridad lo disminuye, la mezcla entre extraños lo incrementa. Pero esta no es una situación totalmente válida, por un lado existen muchas situaciones que causan estrés entre individuos que son familiares, incluso entre individuos que son capaces de reconocer, por lo que Zayan (1990), sustenta que la mezcla entre conspecíficos que no se conocen no es necesariamente una condición suficiente que desencadene estrés social.

Los resultados del estudio de correlación de Pearson fueron significativos entre los índices conductuales y la pérdida de peso:

a) existe mayor ganancia de peso cuando el índice de agresión es mayor y hay más pérdida de peso cuando el índice de agresión es menor.

b) cuando el índice de evasión aumenta la pérdida de peso es mayor y existe más ganancia de peso cuando el índice de evasión es menor.

Con relación al punto anterior es probable que el índice de agresión elevado revele una mayor capacidad de éxito para competir por los alimentos, por parte de los animales dominantes y una dificultad mayor para los animales con índices de sumisión mayores al ser desplazados y no poder consumir el alimento, esto es un factor desencadenante de estrés que probablemente se reflejara en la pérdida de peso. De acuerdo con Metz y Mekking (1984), reconocen que el hecho de mantener vacas en confinamiento hace que éstas desarrollen algunas formas de competencia por recursos como comida y agua o incluso por lugares para descansar (Wierenga, 1982). En estas condiciones prevalece un incremento en el nivel de agresión en el hato y una disminución del consumo de alimentos y tiempo de reposo en los animales de rango bajo (Syme y Syme, 1979).

También se observó que la pérdida de peso en general está correlacionada positivamente con el AVM F, es decir a mayor concentración de AVM F existe mayor pérdida de peso, o bien, la presencia de estrés social contribuye a la pérdida de peso. Metodológicamente no fue posible provocar el efecto de estrés social, por lo tanto las correlaciones entre los índices interactivos y el AVM puedan estar enmascaradas ya que la correlación entre el aumento de las concentraciones de AVM y la pérdida de peso fueron evidentes. En humanos la medición de las concentraciones de ácido vanilmandélico urinario se usa alternativa para medir el estrés en niños ante un estrés agudo de gran intensidad (Rakes *et al.*, 1987). Aunque el estrés crónico no ha sido valorado con las mediciones de AVM en humanos, ni en otras especies, es necesario realizar investigaciones más profundas para poder comparar los resultados aquí obtenidos.

### 3 DISCUSION GENERAL

La hipótesis planteada pretende establecer un vínculo entre la modificación de la conducta en los bovinos y la modificación de alguna variable fisiológica, como el ácido vanilmandélico. En este trabajo se consideraron las concentraciones de ácido vanilmandélico en orina.

En varias ocasiones (Broom, 1983; Axelrod y Reisine, 1984) se utiliza la palabra estrés de una manera amplia y sin precisar ni su magnitud, características o bien, si dicho estrés se ha desarrollado para pasar a una fase de estrés prepatológico o patológico. Por ejemplo, si se percibe un hato en condiciones de manejo deficientes, que han inducido ya cambios fisiológicos, deberá cuantificarse la magnitud del estrés, la cronicidad del mismo y si esta dando lugar a adaptación o ha pasado a ser prepatológico (Moberg, 1987a). En otras palabras, las repercusiones fisiológicas de un estrés agudo son diferentes a las de un crónico (Mormede, 1983; Dantzer, 1984). Se puede decir entonces, que el calificativo de estrés se le debe agregar una serie de términos descriptivos que lo definan pues el término se aplica, lo mismo en calor excesivo (Katti y Johnson, 1991) o un ligero cambio en la dieta (Smith *et al.*, 1975) que a un factor mental (Duncan y Petherick, 1991). Así pues, el término estrés resulta muy confuso, incluso algunos autores (Broom y Johnson, 1993) han propuesto una definición más concreta sobre el término: "el estrés es un efecto ambiental sobre un individuo que sobrepasa sus sistemas de control y produce alteraciones para reproducirse, para crecer y produce el incremento de la mortalidad". Aún más, Broom (1988) propone que se utilice el concepto del grado de bienestar animal el cual define como: el estado en el que un individuo en relación a sus intentos por enfrentar a su medio, tomando en cuenta de estos, cuales son exitosos. Este concepto permite evaluar objetivamente el éxito con que los animales enfrentan estímulos adversos, ya que habla de un rango de bienestar que puede ir de positivo a negativo, mientras que el concepto de estrés tiende a ser situado, la mayor parte de las veces, en un entorno negativo. Para poder cuantificar el grado de bienestar animal se recurre a la cuantificación de las respuestas funcionales, como las del sistema inmune, las respuestas de emergencia fisiológica y una gran variedad de respuestas conductuales, entre otros (Broom y Fraser, 1990). En estos términos un animal presentará un

grado de bienestar bueno o malo y el estrés junto con todas sus consecuencias implicaría, una vez clasificado, un nivel malo de bienestar (Broom y Johnson, 1993).

En este ensayo se realizó un intento por integrar el estrés social con una variable fisiológica, a fin de contribuir a la caracterización de estrés. Si se integra la información referente al estrés social generada de la década de los 70s a la fecha, se puede definir como: "las manifestaciones conductuales, fisiológicas y de estructura social que están presentes en los miembros que forman parte de un grupo y que son propiciadas por los factores inductores de estrés social" (Gross, 1965; Boussiou, 1988; Zayan, 1990; Dantzer, 1990; Mendl, 1992; Stookey, 1994). Así pues, los factores inductores de estrés social serán entonces, el conjunto de situaciones adversas del entorno físico y social tendientes a alterar la estabilidad grupal; tales como: (1) entorno social, que incluyen la mezcla de individuos no familiares, la sobrepoblación, la introducción de nuevos individuos en un grupo preestablecido (Boussiou, 1988), la reagrupación continua (Mendl, 1992; Stookey, 1994). Esto genera agresión, tensión social entre congéneres, falta de predicción del tipo de interacción debidas a la sobrepoblación o la perturbación de los vínculos sociales como producto del establecimiento continuo de jerarquías sociales y (2) entorno físico, como la privación de agua y alimento, la falta de espacio para desplazarse, de lugares para comer y descansar, presencia de establos cerrados y la inexperiencia del vaquero al manejar los animales que incrementarán la competencia y los daños físicos entre los bovinos (Zeeb *et al.*, 1990). En este ensayo se procuró un modelo de estrés social con una sola variable que fue la mezcla de individuos de diferentes grupos, pero en su hábitat y con las mismas condiciones de manejo. Este modelo es común y se ha utilizado con éxito por otros autores y en otras especies (Metz, 1984; Kondo *et al.*, 1990).

Una vez definido el campo de acción, esto es, la creación de un modelo de estrés social; se consideró la idea de utilizar una variable fisiológica que pudiese brindar resultados más objetivos sobre una conducta. Las dificultades técnicas para obtener muestras biológicas diversas son evidentes. De manera tal que se induce un estrés agudo y no podrá medirse el estrés social; v.g. la toma de sangre. Al respecto, se pensó como opción para validar las observaciones

conductuales indicativas de estrés al ácido vanilmandélico (AVM), el metabolito urinario de las catecolaminas (Boer, 1986). En humanos no es raro encontrar estudios en los que se utiliza al AVM como indicador de estrés, tal es el caso del estudio presentado por Garvey *et al.*, (1994), en el que los niveles de AVM y otros metabolitos de las catecolaminas se encuentran elevados en individuos que padecen desórdenes de ansiedad; o por ejemplo el estudio de Costa (1993), en el que evalúa las concentraciones de AVM en los controladores de tráfico aéreo; Rakes (1987), reporta que el AVM se encuentra elevado en niños que son sometidos al estrés por acudir al dentista, entre otros ejemplos. En animales sin embargo, la investigación al respecto no es tan amplia, uno de los pocos estudios es el de Savio *et al.*, (1973), quienes hicieron un intento inicial al determinar las concentraciones de AVM en orina de bovinos sometidos a estrés agudo. Durante el desarrollo de este ensayo, Strasser (1993), sugiere el uso la medición de las concentraciones de los metabolitos catecol e indolamina en la orina del bovino como indicadores para diagnosticar tumores, desórdenes neurológicos y como parámetros de estrés, conclusión a la que también se llegó en dicho período por los estudios realizados con carácter de basales (Caballero y Sumano, 1993). En virtud de estos antecedentes, se decidió integrar a esta variable en el modelo descrito de estrés social en vacas.

Así pues, como parte de los estudios basales se llevaron a cabo una serie de ensayos destinados a cuantificar las concentraciones urinarias de AVM en bovinos en situaciones diferentes y evaluar si se podría considerar una variable predecible (Costa, 1993; Savio, *et al.*, 1976; Strasser, 1993). Primeramente, se evaluaron las concentraciones basales de AVM, en grupos de bovinos que desde la perspectiva antropocéntrica, presentan diferencias temperamentales: el ganado Holstein, que se caracteriza por ser de temperamento dócil y está acostumbrado al manejo y el ganado F1 (Holstein-Cebú) con temperamento rebelde y difícil de manejar. El objetivo en este caso, era observar si en individuos conductualmente diferentes existía la misma cantidad de AVM en orina, de ser así no hubiese sido útil para cuantificar diferencias conductuales.

A un grupo de bovinos Holstein que estaban en producción se les dividió según la cantidad de producción, en tres niveles: nivel 1) baja producción, nivel 2) producción media y nivel 3) alta

producción y se hizo un estudio de correlación para ver si la producción influía sobre las concentraciones de AVM, obteniendo datos negativos; también se evaluaron los parámetros de edad y número de partos sin existir correlación tampoco.

Los valores promedio de AVM presentes en las vacas del nivel I se compararon con los bovinos F1 que también son de baja producción. Se detectó una diferencia promedio entre razas, pero contrario a lo que se esperaba, los valores más altos se presentaron en los animales de temperamento más dócil (bovinos Holstein) que los más agresivos (bovinos F1 de Holstein/Cebú). Curiosamente, los bovinos F1 ofrecieron más resistencia al mauceo, incluyendo la toma de muestras de orina.

Es interesante especular acerca de estos resultados. Por ejemplo es posible que dichos cambios puedan obedecer a una o todas las siguientes razonamientos:

1. Es posible que, la raza Holstein, aparentemente de temperamento tranquilo, sea en realidad más tolerante y soporta, mas que aceptar el manejo. Las vacas F1, no permiten el manejo y reaccionan a este.
2. Las vacas presentan diferentes concentraciones de AVM, pero a pesar de ello no tienen mayor estrés unas con respecto a las otras, pues es posible que sus tonos adrenérgicos difieran racialmente sin implicar estrés.
3. Aunque no existen evidencias tangibles, quizá las altas concentraciones de AVM en las vacas Holstein obedezcan al factor productivo (Rothbauer, 1994).

Para Rothbauer (1994), el estrés interno que exigen los procesos como el crecimiento, la reproducción y la lactación pueden llegar a causar "distress" y enfermedad, es decir ser negativos, mientras las demandas metabólicas no compensada por el organismo, especialmente en la lactación temprana, y no sean aportados los nutrientes necesarios para cubrir dichas demandas. Dicho de otra manera, la presencia de estrés externo, inducido por agentes inductores de estrés, como la deficiencia de nutrientes, contribuyen a generar "distress" y enfermedad, al sumarse al estrés interno inducido por procesos homeorréticos, como la lactación, el crecimiento y la reproducción.

Por otro lado, se pensó que sería útil llevar a cabo mediciones del AVM en condiciones estrés extremo y cuantificar la magnitud del cambio, como representativa del estado basal, en el que se hayan normalmente cada una de las razas. Se consideró como modelo representativo e inequívoco de la existencia de estrés a la matanza con diferentes tipos de sacrificio: 1) puntilla y 2) pistola de perno cautivo para dos grupos de bovinos FI y Holstein. Los resultados indican que hay diferencias evidentes debidas a método de sacrificio y a raza, y que el porcentaje de variación del valor medio basal de Holstein al valor medio más alto logrado con la puntilla, que fue el método que indujo más estrés. Esto es, los resultados parecen indicar que los bovinos FI se encontraban en un estado basal de menor tono adrenérgico, quizá menos sujetos a estrés.

Esto es, los resultados parecen indicar que los bovinos FI se encontraban en un estado basal de menor tono adrenérgico, quizá menos sujetos a estrés. No obstante el vínculo de la observación conductual y los niveles de AVM no resultaban congruentes, en los modelos anteriores, por lo que fue necesario utilizar un modelo de estrés social, para determinar si el AVM es o no una variable indicativa de estrés crónico.

Aunque se requieren estudios adicionales, es importante contemplar la posibilidad de que este método valide la medición de AVM como un detector de estrés agudo que puede tener utilidad, no sólo a nivel de investigación, sino también como control de los sistemas de sacrificio en rastros lo cual puede ahorrar mucho sufrimiento animal (Aluja, 1983) y ayudar a las personas que trabajan en las asociaciones protectoras de animales.

Cabe señalar que en este ensayo la casuística fue inevitable, la decisión de eliminar 8 datos aberrantes de los resultados de los valores para AVM obtenidos por sacrificio con puntilla para el grupo de bovinos FI sacrificados con puntilla, fue tomada en parte debido a que la presencia de éstos contribuyó a la presentación de una media y desviación estándar elevadas (casi un 600 %), con respecto al valor de AVM basal para bovinos FI. Sin embargo, es posible que tales datos proporcionen información sobre un hecho aislado ocurrido mientras se procedía a sacrificar con puntilla al segundo bovino FI, que en el momento en que le fue aplicada la puntilla, éste cayó al piso, pero unos segundos después se levantó corrió mientras los

trabajadores del rastro hacían el intento de atraparlo, por otro lado, todo esto sucedía mientras los otros animales esperaban y presenciaban el hecho, que duró aproximadamente 15 minutos. Esta observación nos permite pensar que pudiese existir una relación concreta entre conducta y concentraciones urinarias de AVM (Garvey *et al.*, 1995).

Para el establecimiento de la relación entre la conducta y la medición de un indicador fisiológico era necesario crear un etograma en bovinos basado en sus conductas sociales (Galindo, 1994). Estas se plasmaron en la hoja de registro del Apéndice I en la sección de resultados y con ellas se realizó el registro de la frecuencia de conductas sociales presentes en los animales de los dos grupos investigados, por seis días consecutivos. El grupo A conformado por 5 animales, provenía de un solo hato y el grupo B de hatos diferentes. Antes de introducir a los animales a su corral y al finalizar el total de las observaciones, se evaluaron las concentraciones urinarias de AVM inicial y final. Posteriormente se llevó a cabo un estudio de correlación de Pearson para evaluar la relación conducta-concentraciones de AVM final.

Los resultados de la correlación indican que la conducta no parece ser determinante con los valores finales de AVM final. Sin embargo parece existir una correlación significativa entre la pérdida de peso y AVM final.

Es probable que ensayos adicionales de mayor duración y con otros tiempos de observación puedan revelar datos adicionales. Por ejemplo, Galindo (1994), considera recomendable observar a los animales por periodos de 24 horas si se quiere hacer un estudio más exhaustivo. Las observaciones etológicas de este ensayo se ajustaron a los criterios de Mormede (1990), que considera que los efectos agudos de la reagrupación pueden persistir las primeras 72 horas.

Generalmente se asocia al estrés social a la alta densidad de población y a la presencia de individuos extraños (Zayan, 1990). En lo correspondiente a la presencia de individuos extraños, en el Grupo B, se esperaba que existiera una diferencia entre patrones agonísticos y una

elevación más evidente de AVM, con respecto al Grupo A. Sin embargo, no se apreciaron diferencias significativas entre grupos. Según Fraser y Rusken (1987), resulta conocido que la mezcla de conespecíficos que no se conocen entre sí, induce agresión recíproca y que esas peleas aumentan la respuesta de la glándula adrenal con la producción de catecolaminas y corticosteroides. Sin embargo, en este ensayo no se observó, pues probablemente las jerarquías se establecieron rápidamente. Además se ha sugerido que el agente inductor de estrés en bovinos es la mezcla de individuos no familiares ya que las peleas se intensifican (Wiepkema, 1990). Se piensa que la mezcla de individuos que no se conocen, causa estrés social, la familiaridad lo disminuye la mezcla entre extraños lo incrementa (Sapolsky, 1982). Pero esta no es una situación totalmente válida, por un lado existen muchas situaciones que causan estrés entre individuos que son familiares, incluso entre individuos que son capaces de reconocer, por lo que Zayan (1990), sustenta que la mezcla entre conespecíficos que no se conocen no es necesariamente una condición suficiente que desencadene estrés social.

En este trabajo, la correlación de Pearson entre los índices conductuales y la pérdida de peso resultó significativa, de lo cual se puede deducir:

- a) Existe mayor ganancia de peso cuando el índice de agresión es mayor y hay más pérdida de peso cuando el índice de agresión es menor.
- b) Cuando el índice de evasión aumenta la pérdida de peso es mayor y existe más ganancia de peso cuando el índice de evasión es menor.

También se observó que la pérdida de peso en general está correlacionada positivamente con el AVM FINAL, es decir a mayor concentración de AVM FINAL existe mayor pérdida de peso.

Por lo tanto, las vacas sometidas a estrés social tienden a perder peso.

Resulta interesante pensar que este trabajo contribuye a los intentos realizados por evaluar el estrés o el bienestar animal de una manera objetiva, al integrar algunas de las características

individuales medibles como son: las variaciones de alguna variable fisiológica indicadora de estrés agudo o social, con la conducta o la pérdida de peso .

Será necesario que a partir de las aportaciones de este estudio se pueda validar en situaciones de campo, utilizando al AVM como indicador de estrés (Rakes, *et al*, 1987) junto con otro tipo de indicadores ya establecidos, como la medición del eje hipotálamo-lipófolisis-adrenal, conducta, parámetros productivos (Broom, 1983; García-Belenguer y Mormede, 1993; ), pues aunque existen pocos estudios al respecto, un seguimiento formalizado de la técnica podría ser de gran utilidad en un futuro.

#### **4 Conclusiones**

De los resultados de este trabajo se concluye lo siguiente:

1. El ácido vanilmandélico es un parámetro medible en bovinos Holstein y Holstein/Cebú.
2. Puede existir un efecto genético, en el que se aprecien diferencias entre las concentraciones de ácido vanilmandélico variables entre razas.
3. Es un indicador de estrés agudo en bovinos Holstein y Holstein/Cebú.
4. Es un indicador objetivo que junto con la observación de la conducta y la implementación de una metodología adecuada posibilite la medición del estrés social.

## 5 Referencias.

- Al-Gahtani, S.J. and Rodway, R.G. (1991): Plasma  $\beta$  endorphin and cortisol in sheep during isolation stress. *Anim. Prod.*, **52**: 580.
- Aluja, S.A. (1983): Factores de manejo y sacrificio que afectan a la producción de carne. *Vet. Méx.*, **14**: 221-227.
- Arave, C.W., Walters, J.L. and Lamb, R.C. (1978): Effects of exercise on glucocorticoids and other cellular components of blood. *J. Dairy Sci.*, **61**: 1567-1572.
- Arave, C.W. and Albright, J.L. (1981): Cattle behavior. *J. Dairy Sci.*, **64**:1318-1329.
- Axelrod, J. and Reisine, T.D. (1984): Stress hormones: Their interacción and regulation. *Science*, **224**: 452-459.
- Bachman, B. (1988): Acupuncture treatment-bovine infertility. *IVAS NEWS/General Acupuncture*, **14**: 17.
- Balch, C.C. (1955): Sleep in ruminants. *Nature*, **175**: 940-941.
- Banks, E.M. (1982): Behavioral research to answer questions about animal welfare. *J. Anim. Sci.*, **54**: 4434-446.
- Bameoud, P., Neveu, P.J., Vitiello, S., Mordeme, P. and Le Moal, M. (1988) : Brain neocortex immunomodulation in rats. *Brain Res.*, **474**: 394-398.
- Bameoud, P., Le Moal, M. and Neveu, P.J. (1990): Assymetric distribution of brain monoamines in left and right halves mice. *Brain Res.*, **520**: 317-321.
- Beede, D.K., Mallone, P.G., Collier, R.J. and Wilcox, C.J. (1981): Milk yield, feed intake, and physiological responses of dairy cows to varying dietary potassium during heat stress. *J. Anim. Sci.*, **53** (Suppl. 1): 381 (Abstr.).
- Belluardo, N., Mudo, G., Cella, S. and Bindoni, M. (1990): Effect of cerebral hemisfere decortication on the cytotoxic activity of natural killer and natural cytotoxic lymphocytes in the mouse. *Brain Res.*, **524**: 297-302.
- Besaude, O., Babinet, C., Morange, M. and Jacob, F. (1983): Heat shock proteins, first major products of zygotic gene activity in mouse embryo. *Nature*, **305**: 331-333.
- Besedovsky, H., Del Rey, A., Sorkiu, E. and Danirello, C.A. (1986): Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones. *Science*, **233**: 652-654.
- Berkenbosch, F., VanOers J., DelRay, A., Tilders, F. and Besedovsky, H. (1987): Corticotropin-releasing factor-producing neurons in the rat activated by interleukin-1. *Science*, **238**: 524-526.
- Blalock, J.E., Harbour-McMenamin, D. and Smith, E.M. (1985): Peptide hormones shared by the neuroendocrine and immunologic systems. *J. Immunol.*, **135**: 858-861s.

- Blalock, J.E. (1989): A molecular basis for the bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems. *Physiol. Rev.*, 69: 1-32.
- Blecha, F. (1983): Suppressed lymphocyte blastogenic responses and enhanced *in vitro* growth of infectious bovine rhinotracheitis virus in stressed feeder calves. *Am. J. vet. Res.*, 44: 2145-2148.
- Blecha, F., Boyles, S.L. and Riley, G.J. (1984): Shipping suppresses lymphocyte blastogenic responses in Angus and Brahman X Angus feeder calves. *J. Anim. Sci.*, 59: 576-583.
- Blecha, F. (1988): Stress et immunité chez l'animal. *Rec. méd. vét.*, 164: 767-772.
- Boer, S.F., vander Gugten, J. and Slangen, J.L. (1986): Plasma catecholamine and corticosterone responses to predictable noise stress in rats. *Physiol. Behav.*, 45: 789-795.
- Bouissou, M.F. (1975): Establishment of dominance-submission relationships in domestic cattle. III. Effect of social experience. *Z. Tierpsychol.*, 38: 419-423.
- Bouissou, M.F. (1988): Le stress social. *Rec. Méd. Vét.*, 164: 801-812.
- Broom, D.M. (1983): The stress concept and ways of assessing the effects of stress in farm animals. *Appl. anim. Ethiol.*, 11: 79.
- Broom, D.M. (1988): The scientific assessment of animal welfare. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 20: 5-19.
- Broom, D.M. and Fraser, A.F. (1990): *Farm animal behaviour and welfare*. Bailliere Tindall, 3th, London, 437 pp.
- Broom, D.M. and Johnson, K.G. (1993): *Stress and animal welfare*. Chapman and Hall, London. 211 pp.
- Caballero, S.C. y Sumano, H.S. (1993): Caracterización del estrés en bovinos. *Arch. Med. Vet.*, XXV: 15-30.
- Caballero, S.C. y Sumano, L.H. (1994): ¿Es el estrés el que controla la respuesta inmune o viceversa?. *Vet.Méx.*, 25: 99-103.
- Callow L.L. and Parker, R.J. (1969): Cortisone induced relapses in *Babesia argentina* infections of cattle. *Aust. Vet. J.*, 45: 103-104.
- Christison, G.L. and Johnson, H.D. (1972): Cortisol turnover in heat-stressed cows. *J. anim. Sci.*, 35: 1005-1015.
- Clarke, B.L., Gebhardt, B.M. and Blalock, J.E. (1993): Mitogen-stimulated lymphocytes release biologically active corticotropin. *Endocrinology*, 132:983-988.
- Cody, R.P. and Smith, J.F. (1991): *Applied Statistics and the SAS Programming Language*. 3th. Elsevier Science. New York.

- Collins, P.L. and Hightower, L.E. (1982): Newcastle disease virus stimulates the cellular accumulation of stress (heat shock) mRNAs and proteins. *J.vir.*, 44:703-707.
- Costa, G. (1993): Evaluation of workload in air traffic controllers. *Ergonomics*, 36: 1111-1120.
- Crookshank, H.R., Elisdale, M.H., White, R.G., Clanton, D.C. and Smalley, H.E. (1979): Effect of transportation and handling calves upon blood serum composition. *J. Anim. Sci.*, 48: 430-435.
- Dantzer, R. and Mormede, P. (1983): Stress in farm animals: A need for reevaluation. *J. Anim. Sci.*, 57: 1-18.
- Dantzer, R. (1984): Psychobiologie des émotions. In: Delacour, J. *Neurobiologie des comportements*. Hermann Editeur, Paris. pp 111-143.
- Dantzer, R. (1986): Behavioral, Physiological and functional aspects of stereotyped behaviour: A review and re-interpretation. *J. Anim. Sci.*, 62: 1776-1786.
- Dantzer, R. (1990): The concept of social stress. In: Zayan, R. and Dantzer, R.: *Social stress in domestic animals*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp3-7.
- Davies, D.H. and Duncan, J.R. (1974): The pathogenesis of recurrent infections with infectious bovine rhinotracheitis virus induced in calves by treatment with corticosteroids. *Cornell Vet.*, 64: 340-366.
- Dawson-Saunders, B. y Trapp, R.G. (1993): *Bioestadística médica. Manual Moderno*, México, D.F.
- DeSouza, E.B. (1993): Corticotropin-releasing factor and interleukin-1 receptors in the brain-endocrine-immune system axis. Role in stress response and infection. In: Taché, Y. and Rivier C. (Eds), *Corticotropin-releasing factor and cytokines: Role in the stress response*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 697: 9-27.
- Dickson, D.P., Barr, G.R. and Wiecker, D.A. (1966): Social relationship of dairy cows in feed lot. *Behav.*, 29:195-203.
- Draper, N. and Smith, H. (1966): *Applied regression analysis*. John Wiley and Sons, Inc. New York, U.S.A.
- Drenkard, D.V., Gorewit, R.C., Scott, N.R. and Sagi, R. (1985): Milk production, health, behaviour, and endocrine responses of cows exposed to electrical current during milking. *J. Dairy Sci.*, 68: 2694-2702.
- Duncan, I.J.H. and Petherick, J.C. (1991): The implications of cognitive process for animal welfare. *J. Anim. Sci.*, 69: 5017-5022.
- Dunn, A.J. (1988): Nervous system-immune system interactions: An overview. *J. Rec. Res.*, 8: 589-607.

- Dunn, A.J. and Berridge, C.W. (1990): Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses?. *Brain Res. Rev.*, 15: 71-100.
- Ewbank, R.L. (1985): Behavioral responses to stress in farm animal. In: Moberg, G.P.: *Animal Stress*. American Physiology Society Bethesda, Maryland. pp 71-79.
- Fell, L.R., Shutt, D.A. and Bentley, C.J. (1987): Development of a salivary cortisol method for detecting changes in plasma "free" cortisol arising from acute stress in sheep. *Aust. vet. J.*, 62: 403-407.
- Fisher, L.A., Rivier, J., Rivier, C. Spiess, J., Vale, W. and Brown, M.R. (1982). Corticotropin-releasing factor (CRF): central effects on mean arterial pressure and heart rate in rats. *Endocrinology*, 110: 2222-2224.
- Fordham, D.P., Lincoln, G.A., Ssewanyana, E. and Rodary, R.G. (1989): Plasma  $\beta$  endorphin and cortisol concentrations in lambs after handling, transport and slaughter. *Anim. Prod.*, 49: 103-108.
- Fowler, M.E. (1978): *Restraint and handling of wild and domestic animals*. Iowa State University Press., Ames, Iowa, USA.
- Fraser, D. and Rushen, J. (1987): Aggressive behaviour. In: Price, E.O. "Farm animal behaviour". *Vet. Clin. of North Am.*, 3: 285-305.
- Fraser, A.F. (1989): Animal welfare theory: The keyboard of the maintenance ethcosystem. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 22: 177-190.
- Friend, T.H., Polan, C.E., Gwazdauskas, F.C. and Heald, C.W. (1977): Adrenal responses to exogenous adrenocorticotropin mediated by density and social disruption in lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 60: 1958-1963.
- Friend, T.H. and Dellmeier, G.R. (1985): Comparasion of four methods of calf confinement. *I. Physiology. J. Anim. Sci.*, 60: 1095-1101.
- Friend, T.H. (1989): Symposium: Response of animals to stress. Behavioral aspects of stress 1. *J. Dairy Sci.*, 74: 292-303.
- Fulkerson, W.J., Sawyer, G.J. and Gow, C.B. (1980): Investigations of ultradian and circadian rhythm in the concentrations of cortisol and prolactin in the plasma of dairy cattle. *Aust. J. Biol. Sci.*, 33: 557-561.
- Galindo, F. (1994): The relationship between behaviour and the occurrence of lameness in dairy cows. PhD. Thesis. University of Cambridge, U.K.
- Ganhao, M.F., Hatting, J., Kay, G.W., Cornelius, S.T. and Grobbelaar, J.A.N. (1985): Plasma constitutens in nguni cows over forty-eight hours. *J. South Afr. Vet. Ass.*, Dec.:177-180.
- Ganong, W.F. (1990): *Fisiología Médica*. 12a. ed. El Manual Moderno, México.
- García-Belenguer, S. y Mormede, P. (1993): Nuevo concepto de estrés en ganadería: psicobiología y neurobiología de la adaptación. *Prod. Sanid. Anim.*, 8: 87-99.

- Garvey, M.J. , Noyes, R. jr, Woodman, C and Lauckes, C. (1995): The association of urinary 5-hydroxyindoleacetic acid and vanillylmandelic acid in patients with generalized anxiety. *Neuropsychobiol.*, **31**, 6-9.
- Golub, M.S., Sassenrath, E.N. and Goo, G.P. (1979): Plasma cortisol leves and dominance in peer groups of rhesus monkeys weanlings. *Horm. Behav.*, **12**: 50-59.
- Grandin, T. (1980): The effect of stress of livestock and meat quality prior or during slaughter. *Int. J. Stud. Anim. Probl.* **1**: 313-337.
- Grandin, T. (1988): Stress et manipulation animaux. *Rec. méd. vét.*, **164**: 813-821.
- Griffin, J.F.T. (1989): Stress and immunity: Unifying concept. In: *Veterinary Immunology and Immunopathology*. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands. pp 263-312.
- Gross, W.B. and Germile, C. (1970): Furthe studies on effects of social stress on the resistance to infection with *Escherichia coli*. *Poult. Sci.*, **49**:41-46.
- Grossman, A. ans Rees, L.H. (1983):. The neuroendocrinology of opioid peptides. *Br. Med. Bull.*, **38**: 83-88.
- Guillemin, R., Vargo, T., Rossier, J., Minick, S., Ling, N., Rivier, C., Vale, W. and Bloom, F. (1977):  $\beta$  endorphin and adrenocorticotropin are secreted concomitantly by the pituitary gland. *Science*, **197**: 1367-1369.
- Gwazdauskas, F.C. (1974): Interrelationships of certain thermal and endocrine phenomena and reproductive function in the female bovine. *Ph.D. Dissertatton*, Univ. of Florida Gainesville.
- Hafez, E.S.E. and Bouissou, M.F. (1975): The behaviour of cattle. In: Hafez, E.S.E. *The Behaviour of Domestic Animals*. 3th ed. Bailliere Tindall, London. pp (205-245).
- Harris, M. (1969): Growth and survival of mammalian cells under continuous thermal stress. *Expl. Cell. Res.*, **56**: 382-386.
- Hartsöck, T.G. (1982): Ethological approach to farm animal behaviour research. *J. Anim. Sci.*, **54**: 447-450.
- Henry, J.P. and Stephens, P.M. (1977): Stress, health, and the social environment. A sociobiologic approach to medicine. *Topics in environmental physiology and medicine*, Springer, New-York.
- Henry, J.P. (1985): Neuroendocrine patterns of emotional response. In: *Emotion: Theory, Research and Experience*. Academic Press, New York. pp 37-60.
- Hudson, S., Mullord, W.G., Whittlestone, W.G. and Payne, E. (1975): Diurnal variations in blood cortisol in the dairy cow. *J. Dairy Sci.*, **58**: 30-33.
- Huntingford, F.A. and Turner, A.K. (1987): *Animal conflict*. Chapman and Hall.
- Hwang, Y-C. (1988): Stress of electric stimulation in veterinary acupuncture. *IVAS NEWS/General Acupuncture*, **14**: 12.

- Jephcott, E.H., McMillen, I.C., Rushen, J.P. and Thorburn, G.D. (1987): A comparison of the effects of electroimmobilisation and, or shearing procedures on ovine plasma concentrations of  $\beta$  endorphin concentrations,  $\beta$  lipoprotein and cortisol. *Res. Vet. Sci.*, 43: 97-100.
- Johnson, H.D. and Vanjonak, W.J. (1976): Effects of environmental and other stressors on blood hormone patterns in lactating animals. *J. Dairy Sci.*, 59: 1603-1617.
- Johoustone, N.E. and Buckland, R.B. (1976): Response of male Holstein calves from seven sires to four management stress as measured by plasma corticoid levels. *Can. J. Anim. Sci.*, 56: 727-732.
- Katti, P.S., Katti, A.M. and Johnson, H.D. (1991): Determination of the heat exposure effects on the concentration of catecholamines in bovine plasma and milk. *J. Chromat.*, 566:29-38.
- Keyse, S.M. and Tyrrel, R.M. (1989): Hemo oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblast by UVA radiation, hydrogen peroxide and sodium arsenite. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 86: 99-103.
- Kent, J.H. and Ewbank, R. (1986): The effects of the transportation on the blood constituents and behaviour of calves. III. Three months old. *Br. vet. J.*, 142: 326-335.
- Kouarska, M., Stewart, R.E., and McCarty, R. (1989): Sensitization of sympathetic-adrenal medullary responses to a novel stressor in chronically stressed laboratory rats. *Physiol. Behav.*, 46: 129-135.
- Kondo, S., Kawakami, N., Kahoma, H. and Nishina, S. (1983/84): Changes in activity, spatial pattern and social behavior in calves after grouping. *Appl. Anim. Ethol.*, 11: 217-228.
- Kondo, S. and Humik, J.F. (1988): How can you tell if your cows are upset? An approach to objective assessment of psychological stress in dairy cows. *Highlights*, 11: 3-5.
- Lee, J.A., Roussel, J.D. and Beatty, J.F. (1976): Effect of temperature-season on bovine adrenal cortical function, blood cell profile, and milk production. *J. Dairy Sci.*, 59: 104-108.
- Lysle, D.T., Cunnick, J.E., Kucinski, B.J., Fowler, H. and Rabin, B.S. (1991). Facilitation of conditioned emotional response learning by the immune system. In: Frederickson, R.C.A. (Ed.), *Peripheral signaling of the brain: Role in neuroimmuneinteractoins and learning and memory*, Hogrefe and Huber Int, Publ., Ontario, Canada.
- Levi, L. (1975): Parameters of emotion: an evolutionary and ecological approach. In: Levi, L.: *Emotions- their parameters and measurement*. Raven Press, New York. pp 705-711.
- Levine, S. (1985): A definition of stress? In: Moberg, G.P., *Animal Stress*. Am. Physiol. Soc. Waverley Press., Bethesda, Maryland. pp 51-69.
- Lough, D.S., Beede, D.L. and Wilcox, C.J. (1990): Effects of feed intake and thermal stress on mammary blood flow and thier physiological measurements in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 73: 325-332.
- McLoughlin, L., Buzzetti, R., Barletta, C., Scavo, D. and Rees, L.H. (1989): Characterization of the ACTH-like immunoreactivity detected in cells of the immune system. *J. Endocrinol, Invest.* [Suppl.4] 12: 49-51.

- May, I., Manoui, I., Donta, C., Tetu, M., Vior, C. and Maldovan, C. (1979): Stress and imununitat beim Rind. *Arch. Exp. Veterinaermed.*, 33: 87-98.
- Martin, P. and Bateson, P.: Recording methods. (1987). In: Martin, P. and Bateson, P. **Measuring Behaviour. An Introductory Guide.**, Cambridge University Press, Cambridge. pp 49-70
- Mench, J.A., Swanson, J.C. and Stricklin, W.R. (1990). Social stress and dominance among group members after mixing beef cows. *Can. J. Anim. Sci.*, 70: 345-354.
- Mendl, M., Zanella A. J. and Broom, D.M. (1992): Physiological and reproductive correlates of behavioural strategies in female. *Anim. Behav.*, 44: 1107-1121.
- Metz, J.H.M. and Mekking, P. (1984): Crowding phenomena in dairy cows as relates to available space in cubicle housing system. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 12: 63-78.
- Milton, J.S. (1994): *Estadística para la biología y las ciencias de la salud*. 2a. Interamericana-Mc. Graw Hill, México, D.F.
- Miller, K. and Wood-Gush D.G.M. (1991): Some effects of housing on the social behavior of dairy cows. *Anim. Prod.*, 53: 271-278.
- Moberg, G.P. (1987)<sup>a</sup> : Problems in defining stress and distress in animals. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 191: 1207-1211.
- Moberg, G.P. (1987)<sup>b</sup> : A model for assessing the impact of behavioral stress on domestic animals. *J. Anim. Sci.*, 65: 1228-1235.
- Monjan, A.A. and Collector, M.I. (1977): Stress-induced modulation of the immune response. *Science*, 196: 307-308.
- Mormede, P., Soissons, J., Blutre R.M., Raoul, J., Legarff, G., Levieux, D. and Dantzer, R. (1982): Effect of transportation on blood serum composition, disease incidence and production traits in young calves, influence of the journey duration. *Ann. Rech. Vet.*, 13: 369-384.
- Mormede, P. (1990): Neuroendocrine responses to social stress. In In: Zayan, R. and Dantzer, R.: **Social stress in domestic animals**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp 203-211.
- Navarro, H.J. (1986): Estrés y calidad de la carne. En: **Memorias del primer curso integral sobre estrés en los animales domésticos**. División de Educación Continua, F.M.V.Z., México, D.F. pp 156-170.
- Navarro-Beltrán I.E. (1984): **Diccionario terminológico de ciencias médicas**. 12 ed. Salvat. Barcelona (España).
- Neveu, P.J., Betancur, C., Bameoud, P., Vitiello, S. and Le Moal N. (1991): Functional brain asymmetry and lymphocyte proliferation in female mice: effects of right and left cortical ablation. *Brain Res.*, 550: 125-128.

- Payne, E., Cope, B.C., Huges, J.M. and Phipps, D.E. (1992): The metabolism of noradrenaline in the sheep and the effect of dry matter intake upon the reduction of a metabolite, urinary vanillylmandelic acid. *Comp. Bioch. Phys.*, 101: 661-664.
- Parrot, R.F. and Misson, B.H. (1989): Changes pigs salivary cortisol in response to transport stimulation, food and water deprivation, and mixing. *Br. Vet. J.*, 145: 501-505.
- Phillips, W.A. (1984): The effect of assembly and transit stressors on plasma fibrinogen concentration in beef calves. *Cau. J. Comp. Med.*, 48: 35-41.
- Pratt, N:C. and Lisk, R.D. (1991): Role of progesterone in mediating stress-related litter deficits in golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *J. Rep. Fert.*, 92: 139-146.
- Raud, H.R., Kiddy, C.A. and Odell, W.O. (1971): The effect of stress upon the determination of the serum prolactin by radioimmunoassay. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 136: 689-693.
- Rakes, G.M., Strom, E.A. and Sullivan, R.E (1987): Vanilmandelic acid: an alternative for measuring dental stress in children. *Pediatr. Dent.*, 9: 38-41.
- Riley, V. (1981): Psychoneuroendocrine influences on immunocompetence and neoplasia. *Science*, 212: 1100-1109.
- Rhynes, W.E. and Ewing, L.L. (1973): Plasma corticosteroids in Hereford bulls exposed to high ambient temperature. *J. Anim. Sci.*, 36: 369-373.
- Rivier, C., Rivier, J. and Vale, W. (1986): Stress-induced inhibition of reproductive functions: role of endogenous corticotropin-releasing factor. *Science*, 231: 607-609.
- Roth, J.A. (1985): Cortisol as a mediator of stress-associated. In: Moberg, G.P., *Animal Stress*. American Physiology Society Bethesda, Maryland. pp 225-244.
- Roth, J.A. and Kaerberle, M.L. (1981): Evaluation of the bovine polymorphonuclear leukocyte function. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2: 157-174.
- Roth, J.A. and Kaerberle, M.L. (1981): Isolation of the neutrophils and eosinophils from the peripheral blood of cattle and the comparison of their functional activities. *J. Immunol. Meth.*, 45: 153-164.
- Rothbauer, D.L. (1994): The relationship between production, stress, and the health of dairy cows. *Vet. Med., Dec.*: 1164-1168.
- Sapolsky, R.M. (1982): The endocrine stress response and social status in the wild baboon. *Horm. Behav.*, 16: 108-133.
- Sato, S., Taramazu, K. and Hatae, K. (1993): The influence of social factor on allogrooming in cows. *Appl. Anim. Behav.*, 38: 235-244.

- Savio, T.J., Johnson, H.D., Hahan, L. and Thomas, G.D. (1976): Effect of horn flies on vanilmandelic acid excretion of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **59**: 318-320.
- Sciandra, J.J. and Subjeck, J.R. (1984): Heat shock proteins and protection of proliferation and traslation in mammalian cells. *Can. Res.*, **44**: 5188-5194.
- Selye, H. (1973): The evaluation of the stress concept. *Am. Sci.*, **26**: 901-946.
- Shavit, Y., Lewis, J.W., Terman, G.W., Gale, R.P. and Liebeskind, J.C.(1984) : Opioid peptides mediate the suppressive effect of stress on natural killer cell cytotoxicity. *Science*, **223**: 188-192.
- Shaw, K.E. and Nichols, R.E. (1969): Plasma 17  $\beta$ - hidroxicorti-costeroides in calves: the effects of shipping. *Am. J. Vet. Res.*, **25**: 252-253.
- Sheffey, B. and Davies, D.H. (1972): Reactivation of bovine herpesvirus after corticosteroid treatment. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **140**: 974-976.
- Shope, R.E., Muscoplat, C.C., Chen, A.W. and Jhonson, D.W. (1976): Mechanism of protection from primary bovine viral diarrheea virus infection. 1. The effect of dexamethasone. *Can. J. Comp. Med.*, **40**: 355-359.
- Smith, R.D., Hansel, W. and Coppock, C.E. (1975): Plasma adrenocorticoid response to corticotropin in dairy cattle fed high silage diets. *J. Dairy Sci.*, **58**: 1708-1712.
- Sonnenfeld, G., Cunnick, J.E., Armfield, A.V., Wood, P.G., and Rabin, B.S. (1992): Stress-induced alterations in interferon production and class II histocompatibility antigen expression. *Brain Behav. Immunity*, **6**: 170-178.
- Steel, R.G.D. y Torrio, J.H.(1989): *Bioestadística y Procedimientos*. Mc. Graw Hill. 2a. México, D.F..
- Stenze-Poore, M., Vale, W.W. and Rivier, C. (1993): Relationship between antigen-induced immune stimulation and activation of the hypotalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. *Endocrinol.*, **132**: 1313-1318.
- Stookey, J.M. and Gonyou, H.W.: The effects of regrouping on behavioral and production parameters in finishing swine. *J. Anim. Sci.*, **72**: 2804-2811.
- Stott, G.H. (1981): What is animal stress and how is it measured? *J. Anim. Sci.*, **52**: 150-153.
- Strasser, A., Kruzik, P. and Weiser, M. (1993): Measurement of catechol- and indole-amine metabolites in urine of cattle. *Wiener Tierarztliche Monatsschrift (abst)*, **80**:297-301.
- Subjeck, J.R. and Shyy, T.T. (1986): Stress proteins systems of mammalian cells. *Am. Phys.Soc.*, C1-C17.
- Sumano, L.H., Hernández, J.M., Basurto, C.H. and Mateos, T.G. (1989): Effects of acupuncture on the treatment of repeat breeding zebu cattle. *Am. J. Acup.*, **17**: 337-340.

- Sumano, L.H. y Caballero, Ch. S. (1994): Por qué estudiar el estrés en medicina veterinaria. En: *Memorias del primer curso integral sobre estrés en los animales domésticos*. División de Educación Continua, F.M.V.Z., México, D.F. pp 1-3.
- Sutton, R.H. and Hobman, R. (1975): The value of plasma fibrinogen estimations in cattle: a comparison with total leucocyte and neutrophil counts. *N.Z. Vet. J.*, **23**: 21-27.
- Syme, G.J. and Syme, L.A. (1979): *Social structure in farm animals*. Elsevier, Amsterdam.
- Terman, G.W., Shavit, Y., Lewis, J.W., Cannon, J.T. and Liebeskind, J.C. (1984): Intrinsic mechanism of pain inhibition: Activation by stress. *Science*, **226**: 1270-1277.
- Tietz, N.W. (1970): *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Nueva Editorial Interamericana, México.
- Uehara, A., Gottschal, P.E., Dahl, R.R. and Arimura, A. (1987): Interleukin-1 stimulates ACTH release by an indirect action which requires endogenous corticotropin releasing factor. *Endocrinol.*, **121**: 1580-1582.
- Vale, W., Spiess, J., Rivier, C., Rivier, J. (1981): Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and  $\beta$ -endorphin. *Science*, **213**: 1394-1397.
- VanEuler, U.S. (1964): Quantitation of stress by catecholamine analysis. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **5**: 398-403.
- VonBorell, E. (1994): Neuroendocrine integration of stress and significance of stress for the performance of farm animals. In: *Summary of the 28th International Congress of the ISAE Research Centre Foulum, Denmark*, pp 23-28.
- Venkatasseshu, G.K. and Estergreen, V.L. (1970): Cortisol and corticosterone in bovine plasma and the effect of adrenocorticotropin. *J. Dairy Sci.*, **53**: 480-483.
- Wagner, W.C. and Oxeriender, S.L. (1972): Adrenal function in the cow. Diurnal changes and the effects of lactation and neurohypophyseal hormones. *J. Anim. Sci.*, **34**: 630-634.
- Wiepkema, P.R. and Schouten, W.G.P. (1990): Mechanisms of coping in social situations. In Zayan, R. and Dantzer, R.: *Social stress in domestic animals*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp 9-23.
- Wierenga, H.K. (1982): De invloed van overbezetting in ligboxenstallen op het gedrag van melkkoeien. *Bedrijfsontwikkeling*, **13**: 627-631.
- Willet, L.B. and Erb, R.E. (1972): Short term changes in plasma corticoids in dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, **34**: 103-107.
- Wise, M.E., Armstrong, J.T., Hunter, R. and Wiersma, F. (1988): Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress. *J. Dairy Sci.*, **71**: 2480-2485.
- Woloski, B.M.R.N.J., Smith E.M., Meyer, W.J., Fuller, G.M. and Blalock, J.E. (1985): Corticotropin-releasing activity of monokines. *Science*, **230**: 1035-1037.

Zayan, R. and Dantzer, R. (1990): *Social stress in domestic animals*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Zayan, R. (1990): Perspectives in the study of social stress. In: Zayan, R. and Dantzer, R. (1990): *Social stress in domestic animals*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp 31- 69.

Zielinsky, D. (1985): Estimation of vanillylmandelic acid in parotid saliva. *J.Clin. Biochem.*, 27: 238-239.