RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN CON ACTH EN DOS RAZAS DE GANADO BOVINO.

G. Chacón Pérez[1], J. Palacio Liesa[2], S. García-Belenguer Laita[1], A. Sanz Pascua[3], R. Revilla Delgado[3].

[1] Dpto. Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.
[2] Dpto. Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud. Universidad Cardenal Herrera-CEU. Moncada (Valencia).
[3] Servicio de Investigación Agroalimentaria, Gobierno de Aragón, Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

En trabajos anteriores se ha estudiado la capacidad de respuesta a situaciones estresantes de 2 razas de ganado bovino de montaña (Parda de Montaña y Pirenaica). La raza Pirenaica muestra una peor adaptación, tanto a situaciones de estrés biológico (en la subida estacional al pasto, con una mayor sensibilidad a problemas musculares) (García-Belenguer et al., 1996), como en la respuesta a tests de comportamiento (Palacio, 2000).

A nivel basal, la raza Pirenaica presenta concentraciones de cortisol más elevadas que la Parda de Montaña (García-Belenguer et al., 1996). El cortisol es una hormona esteroide sintetizada por la corteza adrenal, su producción aumenta en situaciones de estrés, considerándose en estos casos indicador del estado del bienestar animal (Cook et al., 1996). En este aspecto se recurre, cada vez más a menudo, a la realización de pruebas dinámicas para evaluar la capacidad de respuesta del eje corticotropo. La estimulación con hormona adrenocorticotropa (ACTH) es un test más especifico que la determinación del nivel basal de cortisol, ya que el primero puede revelar diferencias en la actividad funcional que no se observan al comparar los niveles basales de cortisol (Dantzer et al., 1983).

El objetivo de este estudio se centra en la valoración de la respuesta del cortisol salival y plasmático tras la estimulación con ACTH en dos razas bovinas teniendo en cuenta las diferencias respecto al efecto de la raza y de la edad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 56 animales de la especie bovina, de los cuales 40 animales fueron sometidos a la prueba de supresión y estimulación del eje corticotropo y 16 animales pertenecientes al grupo control. El grupo experimental estaba formado por 20 hembras multíparas vacías en periodo de lactación de 2 razas diferentes de aptitud cárnica (Parda de Montaña y Pirenaica) con una edad de 4 a 12 años y sus respectivos terneros (con la misma proporción de machos y hembras dentro de cada raza), todos ellos con una edad comprendida entre los 4 y 4,5 meses. El grupo control estuvo formado por 4 animales de cada raza y edad. Ambas razas se criaron en idénticas condiciones de alimentación y manejo en un sistema de estabulación libre y en régimen de doble tetada.

El diseño experimental consistió en una prueba mixta de supresión con dexametasona seguida de una estimulación con ACTH. A cada animal se le tomó una muestra basal de saliva y plasma tras lo cual se les inyectó 20 μg/kg p.v. de dexametasona (Cortexona, Syva) vía i.m. A las 8 horas se les administró 0,5 mg (madres) ó 0,25 mg (terneros) de ACTH vía i.m. (Nuvacthen Depot, Novartis). Una hora tras la administración de ACTH se procedió a la extracción de sangre y saliva.

Los animales control se sometieron al mismo manejo que al resto de animales pero administrándoles solución salina fisiológica en vez de ACTH o dexametasona.

La determinación de cortisol en plasma y saliva se realizó mediante una técnica de EIA puesta a punto y validada en el laboratorio de Medicina Interna de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza. La técnica tiene un límite de detección de 0,024 ng/ml y la recuperación es de 92,60-103,96% y de 91,36-126,5% en plasma y saliva respectivamente. La precisión intraensayo de 3,47-6,63% en plasma y de 1,47-7,30% en saliva, mientras que la precisión interensayo es de 3,92-9,93% en plasma y de 2,40-9,78% en saliva.

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS v.9.0. Al tener un número pequeño de muestras en cada lote, el estudio de los resultados se llevó a cabo con pruebas no paramétricas. Se aplicó la prueba U de Mann-Whitney para estudiar la diferencias debido a la raza y la edad y la prueba W de Wilconxon para muestras pareadas para estudiar el efecto producido por el tratamiento realizado con la ACTH. Por último las correlaciones entre los parámetros se observaron mediante la prueba de la R de Spearman.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al igual que en trabajos previos (García-Belenguer et al., 1996), a nivel basal se observan concentraciones de cortisol más elevadas en la raza Pirenaica que en la raza Parda de Montaña (tabla 1).

Tabla 1: Parámetros basales y tras la estimulación con ACTH. Letras indican diferencias significativas entre razas ($p<0,05$) y asteriscos diferencias significativas entre extracciones ($p<0,05$).

		Nivel Basal		Post ACTH	
		Parda de Montaña n=10	Pirenaica n=10	Parda de Montaña n=10	Pirenaica n=10
ADULTOS	Cortisol Plasmático (ng/ml)	$8,41 \pm 6,35^{a*}$	$18,97 \pm 8,12^{b*}$	$49,22 \pm 6,05$	$49,84 \pm 6,84$
	Cortisol salival (ng/ml)	$1,24 \pm 1,04^{*}$	$2,13 \pm 0,93^{*}$	$4,95 \pm 1,30$	$4,52 \pm 1,63$
	Relación cortisol saliva/plasma	14,74%	11,23%	10,06%	9,07%
JOVENES	Cortisol Plasmático (ng/ml)	$4,43 \pm 2,49^{*}$	$9,32 \pm 7,85^{*}$	$22,49 \pm 5,02$	$14,52 \pm 12,10$
	Cortisol salival (ng/ml)	$1,02 \pm 0,60^{a*}$	$1,67 \pm 1,07^{b}$	$4,88 \pm 3,19$	$2,77 \pm 0,83$
	Relación cortisol saliva/plasma	23,02%	17,92%	21,70%	19,08%

Existen diferencias significativas ($p<0,05$) entre los 2 grupos de edad, (tanto en la extracción basal como en la post ACTH) con menores concentraciones de cortisol en los terneros que en los animales adultos, lo cual puede deberse a diferentes factores: edad, estado fisiológico, alimentación, manejo, o tipo de estabulación. Sin embargo al calcular la respuesta tras la estimulación con ACTH, mediante el incremento del cortisol (figuras1-4), no se observan diferencias significativas respecto a la edad del animal. Por lo que el factor edad no influye en la capacidad de respuesta del eje corticotropo.

Las concentraciones de cortisol plasmático y salival post ACTH no muestran diferencias significativas entre razas. Pero al estudiar los incrementos de cortisol se observa como la raza Parda de Montaña tiene un aumento de cortisol de mayor intensidad (plasma= 880,28% ± 836,32; saliva 493,50% ± 261,95; n=20) que la raza Pirenaica (plasma=179,56% ± 209,44; saliva=235,21% ± 330,70; n=20).

La respuesta a la ACTH exógena da una idea de la habilidad del individuo para responder al estrés, la imposibilidad de aumentar o mantener el nivel de cortisol frente a un estímulo reduce su capacidad de adaptación a esa situación estresante. Los animales sometidos a un estrés crónico tienen menos capacidad de elevar el nivel de cortisol tras un estímulo estresante, lo que contribuye a la aparición de diversas enfermedades asociadas a estrés crónico (Gwazdauskas et al., 1980).

Las concentraciones basales de cortisol más altas en la raza Pirenica pueden estar produciendo un mayor feed back negativo diario en el eje corticotropo; por lo que su respuesta a estímulos exteriores puede encontrarse disminuida respecto a la raza Parda de Montaña, como se observa en la prueba de estimulación con ACTH (figuras1-4). Todos estos datos indican que la raza Parda de Montaña tiene una mayor capacidad de adaptación a estímulos estresantes que la raza Pirenaica, siendo esta última una raza más sensible a las situaciones de estrés.

Sin embargo, hay que destacar la gran variabilidad interindividual encontrada. Debido a ello, al comparar las diferencias entre razas en el incremento de cortisol salival, resulta significativo cuando tomamos el total de los 20 animales, no siéndolo si estudiamos el efecto dentro de cada grupo de edad (figuras 2 y 4). Esta variabilidad se puede disminuir administrando la ACTH via i.v. en vez de i.m, aunque la via i.v. produce un pico de cortisol de menor intensidad (Veissier y Le Neindre, 1988)

Figura 1: Incremento del cortisol plasmático tras la estimulación con ACTH en animales adultos de 2 razas de aptitud cárnica de la especie bovina.

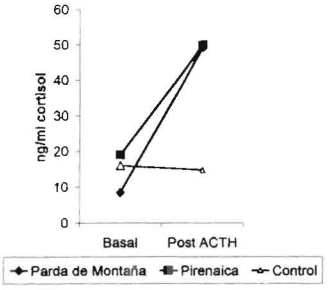


Figura 2: Incremento del cortisol salival tras la estimulación con ACTH en animales adultos de 2 razas de aptitud cárnica de la especie bovina.

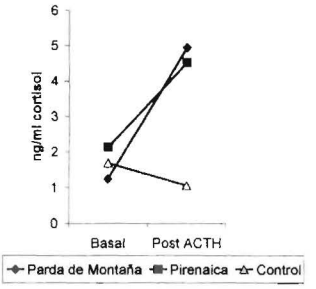


Figura 3: Incremento del cortisol plasmático tras la estimulación con ACTH en terneros de 2 razas de aptitud cárnica de la especie bovina.

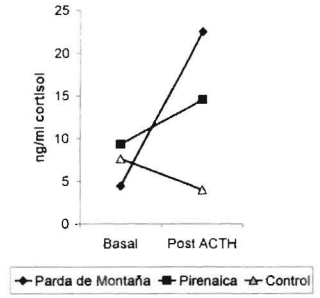
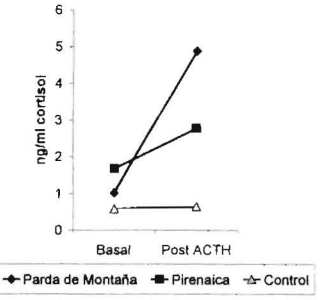


Figura 4: Incremento del cortisol salival tras la estimulación con ACTH en terneros de 2 razas de aptitud cárnica de la especie bovina.



Respecto al tipo de muestras hay que indicar la alta correlación entre las concentraciones de cortisol en plasma y saliva ($r=0,837$; $p<0,001$; $n=80$), siendo posible el uso de cualquiera de ellas. Sin embargo, la respuesta del cortisol plasmático tras la estimulación con ACTH es más clara a la producida en saliva.

Este resultado se puede deber a que las proteínas trasportadoras (CBG) no llegaron a saturarse con el aumento de cortisol; manteniendo la misma proporción de cortisol libre/unido que en condiciones basales. Puesto que a la saliva sólo se filtra la fracción libre de cortisol, el incremento en plasma es mayor, al reflejar ambas fracciones. La relación cortisol saliva/plasma confirma esta teoría, ya que permanece estable tras la estimulación (tabla 1). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en ganado porcino (Mendl et al., 1993; Cook et al.,1996).

Por tanto, las muestras de plasma ponen de manifiesto, de forma más evidente, las diferencias entre cortisol basal y post ACTH, así como las debidas a la raza. Pero no reflejan con exactitud la concentración de cortisol que realmente tiene actividad biológica en el organismo.

Como conclusión del presente trabajo, no se observaron diferencias en las edades del estudio (terneros/adultos) y la raza Pirenaica mostró una concentración basal de cortisol más alta y una menor respuesta ante la estimulación del eje corticotropo con ACTH.

BIBLIOGRAFÍA

Cook N.J, Schaefer A.L., Lepage A., Morgan Jones S., 1996. Canadian J. Anim. Sci. 76, 329-335.
Dantzer R., Mormède P., Bluthe R.M., Soissons J., 1983. Reprod Nutr Dévelop. 23 (3), 501-508.
García-Belenguer S., Palacio J., Gascón M., Aceña C., Revilla R., Mormède P., 1996 Vet. Research 27, 515-526.
Gwazdauskas F.C., Paape M.J., Peery D.A., McGilliard M.L., 1980. Am. J. Research 41(7), 1052-1056.
Mendl M.T., Broom D.M., Zarella A. J.,1993 Proceed. IV concentry conference U.K. American Soc. of Agricultura Engineers. St Joseph M.I: 461-467.
Palacio J., 2000. Tesis doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.
Veissier I., Le Neindre P., 1988. Reprod. Nutr. Develop. 28, 553-562.