

# Progesterona y respuesta de estrés: mecanismos de acción y sus repercusiones en rumiantes domésticos. Revisión

## Progesterone and stress response: mechanisms of action and its impact in domestic ruminants. Review

Aline Freitas-de-Melo<sup>a</sup>, Rodolfo Ungerfeld<sup>b</sup>

### RESUMEN

En roedores, los tratamientos con progesterona (P4) reducen la respuesta de estrés o ansiedad a través de la acción de algunos metabolitos de la P4 (allopregnanolona y pregnanolona). Aunque existen pocos trabajos que hayan estudiado estos efectos en rumiantes, los tratamientos con P4 tienen una gran potencialidad para su aplicación práctica en sistemas productivos. El objetivo de esta revisión fue sintetizar información básica sobre la respuesta de estrés y los principales mecanismos estudiados en roedores, por los que la P4 mitiga la respuesta de estrés. Además, se presenta información primaria sobre los efectos del tratamiento con P4 en el comportamiento reactivo y la respuesta de estrés en rumiantes. Se muestran los efectos del tratamiento con P4 sobre la respuesta de estrés al destete en ovejas, y sobre algunas pruebas de temperamento en terneras. También se presenta información sobre el estrés de la esquila en ovejas gestadas, y por tanto con altas concentraciones séricas de P4. En síntesis, altas concentraciones de P4 reducen la respuesta de estrés, y pueden generar cambios en el comportamiento reactivo de los animales. Sin embargo, para que el tratamiento con P4 o sus concentraciones endógenas sean utilizados como herramienta práctica durante manejos estresantes, o como un factor a ser considerado a la hora de seleccionar animales por temperamento, es necesario realizar más estudios aplicados.

**PALABRAS CLAVE:** Destete artificial, Temperamento, Esquila parto, Neurosteroides, Ungulados.

### ABSTRACT

In rodents, progesterone (P4) administration reduces stress responses or anxiety through the action of some metabolites of P4 (allopregnanolone and pregnanolone). Although, there are few studies on these effects in ruminants, P4 administration has a great potential for practical application in animal production. The aim of this review was to summarize the information about the stress response and the main mechanisms studied in rodents by which P4 administration reduces this response. We also include information on the effects of P4 treatment on reactive behavior and stress response in ruminants. We show that P4 administration decreases the stress response of ewes to abrupt weaning of lambs, and also affects the response to tests of assessment of temperament in female beef calves. We also present information about the stress response of shearing in pregnant ewes, therefore ewes with high serum concentrations of P4. In summary, high serum concentrations of P4 reduces the stress response and provokes changes on the reactive behavior in ruminants. However, more studies are needed to include P4 in practical managements or to consider it in the selection of animals according to their temperament.

**KEY WORDS:** Abrupt weaning, Temperament, Shearing, Neurosteroids, Ungulates.

### INTRODUCCIÓN

La respuesta de estrés se desencadena en un animal cuando él mismo percibe un estresor.

### INTRODUCTION

The stress response is triggered when the animal perceives a stressor. There are two almost

Recibido el 4 de abril de 2014. Aceptado el 30 de junio de 2014.

<sup>a</sup> Departamento de Biología Molecular y Celular, Universidad de la República, Lasplacas 1620, Montevideo (11600), Uruguay. tel.: (598) 26221195, alinefreitasdemelo@hotmail.com. Correspondencia al primer autor.

<sup>b</sup> Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. Uruguay.

Luego se activan en forma simultánea la respuesta del sistema nervioso autónomo simpático y la endocrina (eje-hipotálamo-hipófiso-adrenal)<sup>(1)</sup>. En conjunto, ambas producen cambios fisiológicos y de comportamiento agudos, que ayudan al organismo a adaptarse y responder al estresor<sup>(1)</sup>. En roedores, los tratamientos con progesterona (P4) reducen la respuesta de estrés o ansiedad, básicamente a través de algunos metabolitos de la P4 llamados metabolitos neuroactivos, como la allopregnanolona y la pregnanolona<sup>(2,3)</sup>. Estos metabolitos pueden reducir la percepción y reacción al estresor, teniendo un efecto ansiolítico<sup>(4)</sup>, y por tanto actuar mitigando la respuesta del eje-hipotálamo-hipófiso-adrenal<sup>(2,5,6)</sup>, generando como efecto global una disminución de la respuesta de estrés<sup>(3,7,8)</sup>.

Aunque su aplicación tiene un potencial importante en sistemas productivos, en rumiantes existen pocos trabajos que hayan estudiado los efectos de la P4 sobre el comportamiento reactivo y la respuesta de estrés. Se ha reportado que el tratamiento sostenido con P4 reduce la respuesta de estrés al destete en ovejas<sup>(9)</sup>. Además, la respuesta de estrés de ovejas gestantes (situación fisiológica en que los animales presentan altas concentraciones de P4), al aislamiento social<sup>(10)</sup> y a la esquila, es menor que la de ovejas vacías. Por otro lado, recientemente se determinó que el tratamiento con P4 afecta la reactividad de terneros frente al manejo humano<sup>(11)</sup>. En este contexto, el tratamiento con P4 puede ser una alternativa práctica para reducir el estrés generado por manejos estresantes en rumiantes, mejorando así su bienestar. Además, sería importante considerar las concentraciones fisiológicas de P4 que tienen los animales a la hora de seleccionarlos por su comportamiento reactivo, para así optimizar los resultados de los procesos de selección.

El objetivo de esta revisión fue sintetizar información básica sobre la respuesta de estrés en mamíferos, y los principales mecanismos

simultaneous responses: the sympathetic autonomic nervous system and the endocrine axis (hypothalamus-pituitary-adrenal)<sup>(1)</sup>. Altogether, both produce physiological and acute behavioral changes, which facilitate the animal to adapt and respond to the stressor<sup>(1)</sup>. In rodents, treatments with progesterone (P4) reduce the response of stress or anxiety, basically through some P4 metabolites called neuroactive metabolites, such as allopregnanolone and pregnanolone<sup>(2,3)</sup>. These metabolites can reduce the perception and reaction to the stressor, producing an anxiolytic effect<sup>(4)</sup>, and therefore decreasing the response of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis<sup>(2,5,6)</sup>, and thus the global stress response<sup>(3,7,8)</sup>.

Although those treatments may be applied in productive systems, there are scarce studies on the effects of P4 on reactive behavior and the stress response in ruminants. It has been reported that treatment with P4 reduces the stress response of ewes to weaning<sup>(9)</sup>. In addition, the stress response of pregnant sheep (physiological situation where animals have high P4 concentrations) to social isolation<sup>(10)</sup> and shearing, is week than in non-pregnant ewes. It has also been recently reported that treatment with P4 affects the reactive response of calves against human management<sup>(11)</sup>. In this context, treatment with P4 may be a practical alternative to reduce the stress generated by stress management in ruminants, thereby improving their well-being. In addition, it would be important to consider the physiological concentrations of P4 when reactive responses are studied to optimize the results of this selection processes.

The objective of this review was to summarize basic information of the stress response in mammals, and the main mechanisms studied in rodents by which P4 mitigates the stress response. In addition, it presents information about the effects of the treatment with P4 in the reactive behavior and the response of stress in ruminants.

## PROGESTERONA Y RESPUESTA DE ESTRÉS. REVISIÓN

estudiados en roedores por los que la P4 mitiga la respuesta de estrés. Además, se presenta información sobre los efectos del tratamiento con P4 en el comportamiento reactivo y la respuesta de estrés en rumiantes.

## RESPUESTA DE ESTRÉS

### *Respuesta aguda*

Cuando un individuo percibe un estresor (agente capaz de desencadenar la respuesta de estrés) de corta duración (desde minutos hasta horas), se activan en forma simultánea dos respuestas: la del sistema nervioso autónomo simpático, y la endocrina<sup>(1,12,13)</sup>. La del sistema simpático es la que se visualiza más rápidamente, a los pocos segundos o hasta minutos después de que se expone el animal al estresor<sup>(13)</sup>. Sin embargo, aunque la respuesta endocrina demora un poco más en visualizarse, presenta efectos más sostenidos en el tiempo (minutos a horas). La mayor demora del sistema endocrino se debe al tipo de mecanismos que se ponen en juego, y no al momento en que se desencadena la respuesta, ya que los glucocorticoides no se acumulan y se deben producir en el momento, requiriendo de más tiempo<sup>(12,14)</sup>. En conjunto, ambas producen cambios fisiológicos y comportamentales que ayudan al organismo a adaptarse y responder al estresor<sup>(1)</sup>. La magnitud de estas respuestas puede depender de factores del animal como ser la experiencia previa con ese estresor, el temperamento, y la percepción del estresor por parte del individuo<sup>(15,16)</sup>.

### *Respuesta simpática*

Cuando el sistema nervioso autónomo simpático es estimulado, se liberan los neurotransmisores adrenalina y noradrenalina en las sinapsis adrenérgicas. Se les denomina también catecolaminas, y son liberadas al torrente sanguíneo por células ubicadas en la médula de las glándulas adrenales<sup>(17)</sup>. De manera general, los efectos generados por las catecolaminas son un aumento de la frecuencia cardíaca y respiratoria, elevación de la temperatura, aumento de la glucemia por

## STRESS RESPONSE

### *Acute response*

When an individual perceives a stressor (agent that triggers a stress response) of short duration (from minutes to hours), both, the sympathetic autonomic nervous system and the endocrine are simultaneously activated<sup>(1,12,13)</sup>. The sympathetic response is displayed a few seconds or even minutes earlier than the endocrine response after the animal is exposed to the stressor<sup>(13)</sup>. However, although the endocrine response takes a little longer to display, it lasts longer (minutes to hours). Although both responses are triggered simultaneously, the glucocorticoids should be secreted at the moment, thus requiring more time the response to be measurable<sup>(12,14)</sup>. Altogether, both systems produce physiological and behavioral changes that help the adaptation and response to the stressor<sup>(1)</sup>. The magnitude of these responses may depend on factors of the animal such as previous experience with that stressor, temperament, and the perception of the stressor by the individual<sup>(15,16)</sup>.

### *Sympathetic response*

When the sympathetic autonomic nervous system is stimulated, it releases the neurotransmitters adrenaline and noradrenaline into the adrenergic synapses. Catecholamines are also released into the bloodstream by cells located in the medulla of the adrenal glands<sup>(17)</sup>. In general, the effects induced by the catecholamines are an increase of heart and respiratory rates, temperature rise, increase of blood glucose concentrations through glycogenolysis, mydriasis, vasodilation in skeletal muscle and peripheral vasoconstriction<sup>(14,17)</sup>. It also increases alertness, vigilance and animal excitement<sup>(18)</sup>.

### *Endocrine response*

When the hypothalamus-pituitary-adrenal axis is activated, the hypothalamus releases corticotrophin-releasing hormone (CRH), and vasopressin, which stimulate the release of the

estimulación de la glucogenólisis, midriasis, vasodilatación en la musculatura esquelética y vasoconstricción periférica<sup>(14,17)</sup>. También aumenta el estado de alerta, la vigilancia y la excitación del animal<sup>(18)</sup>.

#### *Respuesta endocrina*

Cuando se activa el eje hipotálamo-hipofiso-adrenal, el hipotálamo libera la hormona liberadora de corticotropina (CRH), y vasopresina, las que estimulan la liberación de la hormona adrenocorticotrófica (ACTH) por parte de la adenohipófisis<sup>(14)</sup>. La ACTH estimula la secreción de glucocorticoides en la corteza de la glándula adrenal, fundamentalmente el cortisol y la corticosterona<sup>(14)</sup>, siendo el cortisol el glucocorticoide predominante en los rumiantes<sup>(19)</sup>. Los glucocorticoides estimulan la gluconeogénesis, la lipólisis y el catabolismo de las proteínas, elevando la glucemia, con lo que se dispone de energía para que el organismo pueda responder al estresor<sup>(20)</sup>. Además, los glucocorticoides aumentan la perfusión cerebral, la utilización de glucosa, la presión arterial y el rendimiento cardíaco<sup>(21)</sup>. Los glucocorticoides también tienen una acción en el sistema inmune, provocando linfopenia, eosinopenia y neutrofilia<sup>(22)</sup>. Con el cese de la acción del estresor ocurre la inactivación del eje hipotálamo-hipofiso-adrenal a través de una retroalimentación negativa, donde los propios glucocorticoides inhiben la secreción de CRH, vasopresina y ACTH<sup>(18)</sup>.

#### **RESPUESTA CRÓNICA**

La respuesta crónica de estrés se da cuando un animal es expuesto de forma continua o intermitente a estresores durante periodos de tiempo más prolongados (desde días hasta semanas)<sup>(23)</sup>. Este tipo de respuesta de estrés es frecuente en los sistemas de producción de rumiantes, ya que los estímulos estresantes generalmente se mantienen activos durante horas o semanas. La exposición sostenida a los glucocorticoides produce efectos deletéreos sobre los resultados productivos, la salud y

adrenocorticotrophic hormone (ACTH) by the adenohipofysis<sup>(14)</sup>. ACTH stimulates the secretion of glucocorticoids in the cortex of the adrenal gland, mainly cortisol and corticosterone<sup>(14)</sup>, being cortisol the most abundant glucocorticoid in ruminants<sup>(19)</sup>. Glucocorticoids stimulate gluconeogenesis and lipolysis and the catabolism of proteins, thus raising blood glucose concentration to provide main body energy to respond to the stressor<sup>(20)</sup>. In addition, glucocorticoids increase cerebral perfusion, the use of glucose, blood pressure and cardiac performance<sup>(21)</sup>. Glucocorticoids have also an action on the immune system, causing lymphopenia, eosinopenia, and neutrophilia<sup>(22)</sup>. The inactivation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis occurs via a negative feedback, where the secreted glucocorticoids inhibit the secretion of CRH, vasopressin and ACTH<sup>(18)</sup>.

#### **CHRONIC RESPONSE**

The chronic stress response occurs when an animal is continuously or intermittently exposed to stressors during longer periods of time (from days to weeks)<sup>(23)</sup>. This type of stress response is more common in ruminant productive systems, as the stressors usually remain active for hours or weeks. Sustained exposure to glucocorticoids produces deleterious effects on the productive results, health and animal welfare. Generally, high concentrations of glucocorticoids affect the immune system, and may cause immunosuppression in the animal, and therefore leave it more susceptible to diseases<sup>(22)</sup>. Glucocorticoids also promote behavioral changes as the expression of stereotypic movements, reduction of sexual behavior and appetite<sup>(21,24)</sup>. As a consequence, it is common that the animal to lose weight, reduce the quality and quantity of hair or wool, and negatively affect their reproductive status.

In short, in general the stress response is beneficial for the animal as promotes a rapid adaptation to a new situation, allowing the animal to enhance its status, or even survive

## PROGESTERONA Y RESPUESTA DE ESTRES. REVISIÓN

bienestar animal. De manera general las altas concentraciones de glucocorticoides afectan negativamente el sistema inmune, pudiendo inmunosuprimir el animal, y por tanto dejarlo más susceptible a enfermedades<sup>(22)</sup>. Los glucocorticoides también promueven cambios comportamentales como la expresión de estereotipias, la reducción del comportamiento sexual y del apetito<sup>(21,24)</sup>. Como consecuencia de estos cambios es común que el animal pierda peso, reduzca la calidad y cantidad de pelo o lana, y tenga afectado negativamente su estatus reproductivo.

En síntesis, en general la respuesta de estrés es beneficiosa para el animal, porque una adaptación rápida a una nueva situación permite que el animal mejore su estado, o incluso sobreviva cuando los efectos negativos pudieran ser más importantes<sup>(25)</sup>. Sin embargo, cuando el estresor se sostiene en el tiempo, o la intensidad de su efecto sea tan importante para generar una respuesta intensa o de duración sostenida, el resultado final de la respuesta de estrés puede ser negativo para el animal. En muchas situaciones vinculadas a la producción animal, las respuestas indicadoras de estrés no logran modificar la situación que las generó<sup>(25)</sup>. Esto sucede, por ejemplo, luego del destete, en que los animales no logran juntarse nuevamente<sup>(26)</sup>, durante el transporte en que el animal no puede evitar su traslado, o durante el reagrupamiento social<sup>(27)</sup>, en que el animal debe adaptarse a convivir con nuevos individuos previamente desconocidos. En estos casos, las respuestas son costosas para el animal, pero no se modifica la situación, por lo que el resultado final es deletéreo en lugar de ventajoso. En estos casos puede ser importante disminuir la percepción de la intensidad del estresor, o de la respuesta que se desencadena para mejorar el bienestar del animal.

### PROGESTERONA Y RESPUESTA DE ESTRÉS: MECANISMOS DE ACCIÓN

La P4 actúa a través de mecanismos genómicos: a partir de la unión a receptores intracelulares

when the negative effects could be more important<sup>(25)</sup>. However, when the stressor is maintained over time, or the intensity of its' effect is so important to generate a response to intense or sustained duration, the result of the stress response can be negative for the animal. In many situations related to animal production, the response is not enough to modify the situation<sup>(25)</sup>. This happens, for example, after weaning, in which animals fail to reunite again<sup>(26)</sup>, during the transport in which the animal cannot avoid its transfer, or after social grouping, as animals must adapt to live with new previously unknown individuals<sup>(27)</sup>. In these cases, the responses are expensive for the animal, and does not end changing the situation, so the result is deleterious rather than advantageous. In these cases, it may be important to reduce the perception of the intensity of the stressor, or the response triggered to improve the welfare of the animal.

### PROGESTERONE AND STRESS RESPONSE: MECHANISMS OF ACTION

Progesterone acts through genomic mechanisms: linkage to intracellular receptors induces changes in the expression of genes, that stimulates or inhibits gene transcription and protein synthesis, thus generating the cellular response<sup>(28)</sup>. This is a slow mechanism, requiring from minutes to days to display the effect<sup>(29)</sup>. However, both the P4 and its neuroactive metabolites act in a non-genomic way joining ionotropic receptors in the central nervous system. These receptors are members of the superfamily regulating fast neurotransmission, promoting immediate changes, in the order of milliseconds to seconds<sup>(30)</sup>.

Progesterone easily crosses the blood-brain barrier and can alter neuronal excitability in the central nervous system (CNS), to antagonize the serotonergic neurotransmitter receptors and inhibit nicotinic receptors<sup>(31,32)</sup>. It also features a low affinity to inhibitory neural receptors as the  $\gamma$ -aminobutyric<sub>A</sub> acid receptor (GABA<sub>A</sub>),

induce cambios en la expresión de los genes, lo que estimula o inhibe la transcripción génica y la síntesis de proteínas, generando así la respuesta celular<sup>(28)</sup>. Este mecanismo es de respuesta lenta, necesiándose desde minutos hasta días para que se visualice su efecto<sup>(29)</sup>. Sin embargo, tanto la P4 como sus metabolitos neuroactivos actúan de forma no genómica a partir de la unión a receptores ionotrópicos en el sistema nervioso central. Estos receptores son miembros de la superfamilia de canales iónicos que regulan la neurotransmisión rápida, promoviendo cambios inmediatos, en el orden de los milisegundos a segundos<sup>(30)</sup>.

La P4 atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica pudiendo alterar la excitabilidad neuronal en el sistema nervioso central (SNC), al antagonizar receptores de neurotransmisores serotoninérgicos e inhibir receptores nicotínicos<sup>(31,32)</sup>. Además presenta una baja afinidad a los receptores neuronales inhibitorios como el receptor ácido  $\gamma$ -aminobutírico<sub>A</sub> (GABA<sub>A</sub>), receptor inhibitorio encontrado en la mayoría de las neuronas del SNC de los mamíferos<sup>(33)</sup>, y receptor de la glicina<sup>(34)</sup>. Basado en lo anterior, la P4 puede promover efectos inhibitorios o reduce efectos excitatorios en el SNC.

Adicionalmente, en mamíferos a partir de la P4 se generan metabolitos que circulan en sangre, como la dihidroprogesterona, la allopregnanolona y la pregnanolona<sup>(35,36)</sup>, que también atraviesan la barrera hematoencefálica<sup>(37)</sup>. La P4 y la dihidroprogesterona también pueden ser metabolizadas en el propio cerebro hasta allopregnanolona y pregnanolona<sup>(38)</sup>. De esa manera, los metabolitos neuroactivos de la P4 alcanzan concentraciones elevadas en el cerebro<sup>(39)</sup>. Una vez en el SNC, la allopregnanolona y la pregnanolona también pueden unirse a receptores GABA<sub>A</sub> y receptores de la glicina<sup>(40)</sup>, o a receptores de la nicotina, de la serotonina y del glutamato<sup>(41,42,43)</sup>. Por lo tanto, la allopregnanolona y la pregnanolona pueden reducir la excitabilidad neuronal en el SNC a partir de la interacción con receptores

present in most neurons of the mammal CNS<sup>(33)</sup>, and receptor of the glycine<sup>(34)</sup>. Based on the foregoing, the P4 can promote inhibitory effects or reduce excitatory effects in the CNS.

Additionally, P4 from mammals generates metabolites that circulate in blood, as the dihydroprogesterone, allopregnanolone and pregnanolone<sup>(35,36)</sup>, which also cross the blood-brain barrier<sup>(37)</sup>. The P4 and the dihydroprogesterone can also be metabolized in the brain itself to allopregnanolone and pregnanolone<sup>(38)</sup>. Thus, the P4 neuroactive metabolites reach high concentrations in the brain<sup>(39)</sup>. Once in the CNS, allopregnanolone and pregnanolone can join GABA<sub>A</sub> receptors and glycine receptors<sup>(40)</sup>, or nicotine, serotonin and glutamate receptors<sup>(41,42,43)</sup>. Therefore, the allopregnanolone and the pregnanolone can reduce neuronal excitability in the CNS from interaction with some neurotransmitter receptors. In this sense, among those mentioned, the affinity and effects of P4 metabolites on the GABA<sub>A</sub> receptor have been widely studied<sup>(4)</sup>. The allopregnanolone and the pregnanolone have high affinity for the GABA<sub>A</sub> receptor, modulating it positively allosterically<sup>(44)</sup>. This action modulates preferentially the opening of Cl<sup>-</sup> paths, resulting in a hyperpolarization of the cell, and can generate anxiolytic, sedative and analgesic effects<sup>(45)</sup>.

The classical action of P4 on intracellular receptors could be related to effects in the reduction of the stress response, but this mechanism has not yet been well established in the literature. Some evidence using mice knock-out to intracellular receptors of P4 suggests that reduction of the stress or anxiety response could not require a direct action of the P4 on its receptors, although these animals showed a greater sensitivity to the P4<sup>(46)</sup>. In addition, Bitran *et al.*<sup>(7)</sup> did not observe any effect of the P4 in the reduction of the stress response using rats pretreated with antagonists to P4 receptors. However, other studies in rats suggest the existence of an effect of the P4 or

PROGESTERONA Y RESPUESTA DE ESTRES. REVISIÓN

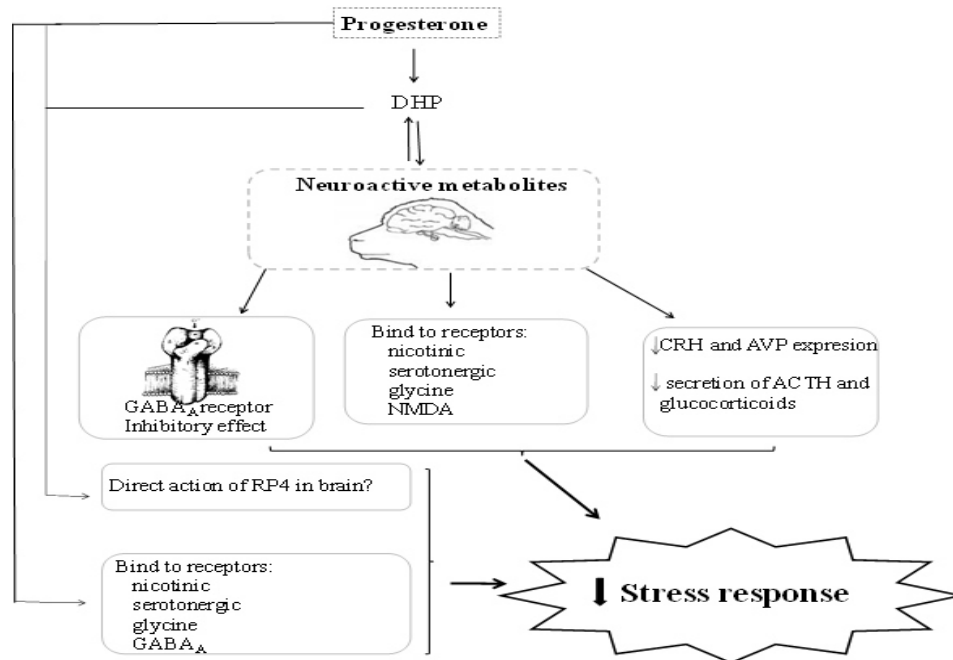
de algunos neurotransmisores. En este sentido, la afinidad y efectos de los metabolitos de la P4 sobre el receptor  $GABA_A$  han sido los más estudiados entre los receptores mencionados<sup>(4)</sup>. La alloapregnanolona y la pregnanolona presentan alta afinidad por el receptor  $GABA_A$ , modulando positivamente de manera alostérica el mismo<sup>(44)</sup>. Esta acción modula preferencialmente la apertura de canales de Cl, lo que resulta en una hiperpolarización de la célula, pudiendo generar efectos ansiolíticos, sedativos y analgésicos<sup>(45)</sup>.

La acción clásica de la P4 sobre receptores intracelulares podría estar relacionada a efectos en la reducción de la respuesta de estrés, pero este mecanismo todavía no está bien establecido en la literatura. Algunas evidencias utilizando ratones knock-out para receptores intracelulares de P4, indican que la reducción de la respuesta

dihydroprogesterone on intracellular P4 receptors<sup>(47,48,49)</sup>, as it was identified a reduction in the stress response in rats treated with medroxyprogesterone (progestin that cannot be metabolized to neuroactive P4 metabolites) or pretreated with P4 receptor antagonists. The P4 could be acting on its intracellular brain receptors, since they are expressed in the amygdala and the bed nucleus of the stria terminalis<sup>(49)</sup>, which are related to the response of stress, fear or anxiety<sup>(50)</sup>. Therefore, the P4 or the dihydroprogesterone could directly join these intracellular receptors, reducing the stress response. However, some of these works speculate on the existence of a direct action of P4 or dihydroprogesterone, by an indirect indicator of stress frequency as lordosis<sup>(47,48,49)</sup>, behavior that is also indicative of sexual receptivity, therefore, confounding those effects.

Figura 1. Mecanismos planteados a través de los que la progesterona mitiga la respuesta de estrés

Figure 1. Mechanisms proposed by which progesterone mitigate the stress response



ACTH= Adrenocorticotrop hormone; AVP= arginine vasopressin; CRH= Corticotropin-releasing hormone; DHP= dihydroprogesterone;  $GABA_A$ =  $\alpha$ -aminobutyric acid type A receptor; RP4= progesterone receptor.

de estrés o de la ansiedad podría no requerir una acción directa de la P4 sobre sus receptores, aunque en dichos animales se observó una mayor sensibilidad a la P4<sup>(46)</sup>. Además, Bitran *et al.*<sup>(7)</sup> utilizando ratas pre-tratadas con antagonistas del receptor de P4, no encontraron afectados los efectos de la P4 en la reducción de la respuesta de estrés. Sin embargo, otros estudios realizados en ratas plantean la existencia de un efecto de la P4 o de la dihidroprogesterona sobre los receptores intracelulares de la P4<sup>(47,48,49)</sup>, ya que se identificó una disminución de la respuesta de estrés en ratas tratadas con medroxiprogesterona (progestina que no puede ser metabolizada hasta los metabolitos neuroactivos de la P4) o pre-tratadas con antagonistas del receptor de P4. La P4 podría estar actuando sobre sus receptores intracelulares en el cerebro, ya que los mismos se encuentran expresados en la amígdala y los núcleos del lecho de la estría terminal<sup>(49)</sup>, que son áreas relacionadas con la respuesta de estrés, miedo o ansiedad<sup>(50)</sup>. Por lo tanto, la P4 o la dihidroprogesterona podrían actuar directamente uniéndose a estos receptores intracelulares, reduciendo la respuesta de estrés. Sin embargo, hay que considerar que en algunos de estos trabajos que especulan con la existencia de una acción directa de la P4 o de la dihidroprogesterona, utilizaron como indicador de estrés la frecuencia de lordosis<sup>(47,48,49)</sup>, comportamiento que también es indicativo de receptividad sexual, lo que no permite discriminar totalmente los efectos.

Más aún, en ratas machos se determinó que la allopregnanolona reduce la expresión de RNAm de CRH, vasopresina, y la secreción de ACTH y por tanto de glucocorticoides<sup>(2,5,6)</sup>; y en consecuencia las respuestas fisiológicas<sup>(2,44)</sup> y comportamentales<sup>(7)</sup> indicadoras de estrés. Por lo tanto, los efectos generales de estos metabolitos de la P4 son la reducción de las respuestas fisiológicas y de comportamiento indicadoras de estrés. En la Figura 1 se propone un posible modelo para explicar los mecanismos por los que la P4 mitiga la respuesta de estrés.

Moreover, in male rats it was determined that allopregnanolone reduces the expression of mRNA for CRH and vasopressin secretion of ACTH and glucocorticoids<sup>(2,5,6)</sup>; and as a result the physiological<sup>(2,44)</sup> and behavioral responses indicative of stress<sup>(7)</sup>. Therefore, the overall effects of these metabolites of P4 is a reduction of the physiological and behavioral responses indicative of stress. Figure 1 presents a possible model to explain the mechanisms by which P4 mitigates the stress response.

Progesterone and its neuroactive metabolites affect reactive behavior in different animal models. While there are few studies in ruminants, it has been reported that pregnant ewes (therefore with high P4 levels), react less than non-pregnant ewes<sup>(10)</sup>. In addition, treatment with P4 produces anxiolytic and analgesic effects in rats<sup>(8,51)</sup>, and decreases aggressive behavior in hamsters<sup>(52)</sup>.

## **EFFECTS OF PROGESTERONE DURING STRESSFUL HANDLING**

### *Artificial weaning in sheep*

The ewe-lamb bond is established at birth, and changes throughout the period of lactation, until weaning of the lamb<sup>(53,54,55)</sup>. Artificial weaning is a common practice that involves a complete separation of the ewe and the lamb before spontaneous weaning, while there still persists a strong bond.

The permanent removal of lambs before the natural weaning age is a stressful event for both, the ewe and the lamb, which produces behavioral and physiological stress responses. After the separation of her lambs, ewes increase the frequency of behaviors related to search, such as vocalizations, and time pacing and walking, at the expense of reducing their time resting and feeding<sup>(56,57)</sup>. In addition, weaning causes physiological changes indicative of stress, as increases in serum cortisol concentration<sup>(58)</sup>, decrease in the total serum protein and globulins, and an increase in albumin concentration<sup>(9)</sup>.



## PROGESTERONA Y RESPUESTA DE ESTRÉS. REVISIÓN

La P4 y sus metabolitos neuroactivos afectan el comportamiento reactivo en diferentes modelos animal. Si bien hay pocos trabajos en rumiantes, se ha reportado que las ovejas gestantes (por tanto, con altos niveles de P4), presentan menor reacción de miedo que las ovejas vacías<sup>(10)</sup>. Además, el tratamiento con P4 produce efectos ansiolíticos y analgésicos en ratas<sup>(8,51)</sup>, y disminuye el comportamiento agresivo en hamsters<sup>(52)</sup>.

### EFFECTOS DE LA PROGESTERONA DURANTE MANEJOS ESTRESANTES

#### *Destete artificial en ovinos*

El vínculo oveja-cordero se establece al parto, y cambia a lo largo del periodo de lactación hasta el destete espontáneo del cordero<sup>(53,54,55)</sup>. En los establecimientos de producción ovina es frecuente la realización de un destete artificial, el que implica una separación completa antes del destete espontáneo del cordero, cuando todavía existe un fuerte vínculo madre-cría.

La remoción permanente de los corderos antes de la edad del destete natural es una situación estresante para la oveja y para el cordero, la cual produce respuestas fisiológicas y de comportamiento indicadoras de estrés. Luego de la separación de su cordero, la oveja aumenta la frecuencia de comportamientos relacionados con la búsqueda de la cría, como las vocalizaciones, y el tiempo que pasa parada y caminando, a costa de reducir su tiempo de descanso y alimentación<sup>(56,57)</sup>. Asimismo, el destete provoca cambios fisiológicos indicadores de estrés en las ovejas, como el aumento en la concentración sérica de cortisol<sup>(58)</sup>, la disminución en la concentración de proteínas séricas totales y globulinas y un aumento en la concentración de albúmina<sup>(9)</sup>.

La administración sostenida de P4 mediante dispositivos intravaginales utilizados para sincronizar celos (CIDR, Pfizer, NZ), reduce los cambios fisiológicos y de comportamiento indicadores de estrés en las ovejas<sup>(3)</sup>. En este estudio, las ovejas tratadas con P4 presentaron

Administration of sustained P4 by intravaginal devices used to synchronize oestrus (CIDR, Pfizer, NZ), reduces the physiological and behavioral changes indicative of stress in ewes<sup>(3)</sup>. In this study, ewes treated with P4 presented a lower frequency of energetically costly behaviors normally displayed by the sheep to join her offspring, as pacing and vocalizing. In addition, this treatment with P4 prevented the reduction observed after weaning in total serum protein concentration, and provoked a minor decrease in the concentrations of globulins. The values of serum globulins after weaning in the untreated sheep reached levels of hipoglobulinemia<sup>(59)</sup>, which could indicate a immunodeficiency state<sup>(60)</sup>.

Weaning is a stressful handling, and can leave the animal more susceptible to diseases; for example, weaned lambs have an increased susceptibility to gastrointestinal parasites<sup>(56)</sup>. An alternative practice may be to administer long-life preparations of P4 the day of weaning, reducing the stress response in sheep. This treatment reduced the frequency of pacing and walking the day of weaning in ewes, as well as tended to vocalize less than the control group (A. Freitas-de-Melo, Ungerfeld R. and R. Pérez-Clariget, unpublished data). In short, P4 therapy reduces chronic stress response of ewes to weaning, generating less negative effects on the immune system and animal welfare.

#### *Prepartum shearing in sheep*

In sheep productive systems, shearing procedures are a stressful event for sheep<sup>(61,62)</sup>. The stress generated by shearing has several components: the movement of animals to the pens, noises and movements related to shearing of other animals, handling and restraint during shearing in an unknown environment, and shearing itself<sup>(63)</sup>. In addition, it also adds thermal stress generated by the loss of the naturally insulating layer of wool, especially when it is done in winter<sup>(64)</sup>. The stress response is similar in sheep sheared by hand or with a shearing machine<sup>(65)</sup>. As part of the

una menor frecuencia de comportamientos energéticamente costosos, como costear y vocalizar, desplegados por la oveja para localizar a sus crías al día del destete. Además, este tratamiento con P4 evitó la reducción en las concentraciones de proteínas totales luego del destete, y provocó una menor disminución en las concentraciones de globulinas. Los valores de globulinas séricas luego del destete en las ovejas no tratadas alcanzaron niveles de hipoglobulinemia<sup>(59)</sup>, que podría indicar un estado de inmuno-deficiencia<sup>(60)</sup>.

El destete es un manejo estresante, pudiendo dejar el animal más susceptible a enfermedades; por ejemplo, corderos destetados presentan un aumento de la susceptibilidad a parasitosis gastrointestinales<sup>(56)</sup>. Recientemente se determinó que un tratamiento con progesterona inyectable administrada solamente el día del destete, reduce la respuesta de estrés en las ovejas, lo que permitiría generar alternativas de aplicación práctica. Este tratamiento redujo la frecuencia en que se observó a las ovejas trasladándose y caminando durante el día del destete, y una tendencia a vocalizar menos que el grupo control (A. Freitas-de-Melo, R. Ungerfeld y R. Pérez-Clariget, datos no publicados). En resumen, el tratamiento con P4 reduce la respuesta crónica de estrés al destete en ovejas, lo que genera un menor efecto negativo sobre el sistema inmune y bienestar animal.

#### *Esquila parto en ovinos*

En los sistemas de producción ovina, la cosecha de lana se realiza mediante la esquila, un manejo estresante para una oveja<sup>(61,62)</sup>. El estrés generado por la esquila tiene varios componentes: el movimiento de los animales al corral, ruidos y movimientos vinculados a la esquila de los otros animales, manipulación e inmovilización durante la esquila en un entorno desconocido y la esquila en sí misma<sup>(63)</sup>. Por otro lado, también se suma el estrés térmico generado por la pérdida de la capa naturalmente aislante del ovino, especialmente cuando se

stress response, there is an increase of cortisol<sup>(62)</sup> and glucose<sup>(63)</sup> blood concentrations, and a significant increase in body temperature<sup>(66)</sup>. It has been reported that body temperature remains elevated for several weeks, even without their normal circadian variations<sup>(67)</sup>. Other acute indicators of stress responses are the decrease in the number of neutrophils, neutrophil/lymphocyte ratio and eosinophilia<sup>(67)</sup>.

Immediately after shearing, the ewe increases the deployment of comfort behavior, feed intake, decreases the frequency of water intake<sup>(68)</sup>. Winter shearing decreases body temperature<sup>(69)</sup>. During the days after shearing the animal needs to adapt to the lack of wool, activating mechanisms of control, such as the decrease in respiratory rate, heart rate increase, and a lower water intake<sup>(70)</sup>. These changes generate greater demands of energy and therefore an increase in feed intake<sup>(71)</sup>. This is associated with an increase in total protein in the blood, increase that stays for a long time, which is independent of any changes in the weight of the sheep<sup>(72)</sup>. (R. Ungerfeld, J.P. Damian, A. Freitas-de-Melo and R. Kremer, unpublished data) recently demonstrated that the increase in cortisol concentrations after shearing is lower in pregnant than in non-pregnant ewes. In addition, behavioral changes generated by shearing were lower in pregnant ewes (A. Freitas-de-Melo, R. Ungerfeld, J.P. Damian, and R. Kremer, unpublished data). In short, shearing is a stressful management, and shearing at the end of the pregnancy reduces stress, which also opens the possibility of speculating in the use of exogenous treatments with P4.

#### *Tests of temperament and interaction with the human*

The individual temperament can be determined by the behavioral changes of the animal resulting from the fear generated by humans or by a novel environment<sup>(73)</sup>. In cattle, the results of those tests may vary according to breed, gender, experience and genetics<sup>(74)</sup>. It has been reported that *Bos indicus* animals and

## PROGESTERONA Y RESPUESTA DE ESTRÉS. REVISIÓN

realiza en invierno<sup>(64)</sup>. La respuesta de estrés es similar en ovejas esquiladas a mano o con máquina de esquila<sup>(65)</sup>. Como parte de la respuesta inmediata de estrés se ha reportado un aumento en las concentraciones sanguíneas de cortisol<sup>(62)</sup> y de glucosa<sup>(63)</sup>, y un aumento importante de la temperatura corporal<sup>(66)</sup>. En algunos trabajos se ha reportado que la temperatura corporal se mantiene alta durante varias semanas, e incluso desaparecen sus variaciones circadianas normales<sup>(67)</sup>.

Otras respuestas agudas indicadoras de estrés son la disminución en la cantidad de neutrófilos y de la relación neutrófilos/linfocitos y la eosinofilia<sup>(67)</sup>. Durante el período inmediato de la esquila, aumenta el despliegue de comportamientos de confort y el consumo de alimento, disminuye la frecuencia de ingesta de agua, y no son afectados los comportamientos sociales<sup>(68)</sup>. La esquila realizada durante el invierno, disminuye la temperatura corporal<sup>(69)</sup>. Durante los días siguientes a la esquila el animal se adapta a la falta de lana, activando mecanismos termorreguladores, como la disminución en la frecuencia respiratoria, el aumento de la frecuencia cardíaca, y un menor consumo de agua<sup>(70)</sup>. Estos cambios generan mayores demandas de energía y por tanto un aumento en el consumo de alimento<sup>(71)</sup>. Esto se ve asociado con un aumento de proteínas totales en sangre, aumento que se mantiene durante un período prolongado, el que es independiente de posibles cambios en el peso de la oveja<sup>(72)</sup>. Recientemente se demostró (R. Ungerfeld, J.P. Damián, A. Freitas-de-Melo y R. Kremer, datos no publicados) que el aumento de las concentraciones de cortisol es menor si se esquilan ovejas preñadas que ovejas vacías. Además, los cambios de comportamiento generados por la esquila fueron menores en las ovejas preñadas (A. Freitas-de-Melo, R. Ungerfeld, J.P. Damián, y R. Kremer, datos no publicados). En síntesis, la esquila es un manejo estresante, y este estrés puede reducirse realizando una esquila en el final de la gestación, lo que abre también la posibilidad de especular con el uso de tratamientos exógenos con P4.

their crosses are more temperamental than the *Bos taurus*<sup>(73)</sup>, and steers are calmer than heifers<sup>(75)</sup>. Nervous temperament refers to animals that react violently when they are handled by humans, being more difficult to handle than tame animals<sup>(75)</sup>. There are several tests to determine the temperament in cattle<sup>(76)</sup>. Some tests such as the scale score are considered partially subjective, but other tests such as the flight distance are objective tests that evaluate the displacement of the animal against the human presence<sup>(77)</sup>.

The cattle temperament is a quantifiable and inheritable characteristic<sup>(78)</sup>, being used to select tame animals<sup>(79)</sup>. To measure temperament, is important to use objective methods and the factors that can affect the results of these tests. In large herds of cattle temperament has a low heritability<sup>(80,81)</sup>, but this can be related to how these tests are usually applied. Commonly, the temperament evaluation is carried out simultaneously in big bovine herds<sup>(82)</sup>. Usually, in grazing systems there are cows with a great variability of reproductive status in the same herd<sup>(83)</sup>, coexisting pregnant, anestrus and cycling cows<sup>(84,85)</sup>. The different reproductive status of cows determine variations in P4 concentration; therefore, this can affect the reactive behavior to humans. It was recently reported that variations in the concentration of P4 affect the results of the tests of temperament in heifers<sup>(11)</sup>, which had a shorter flight distance to humans while they were treated with a CIDR, indicating lower reactivity to humans when P4 levels are elevated. Therefore, it is suggested that the reproductive status of the animals may affect the evaluation of temperament; this should be considered when these trials are done on farms that can have cows in different physiological stages.

## CONCLUSIONS

Progesterone treatments reduce the stress response through several mechanisms. Although the results of several studies are consistent, most of them were conducted in laboratory

*Pruebas para determinar el temperamento animal a partir de la interacción con el humano*

El temperamento del individuo puede ser determinado a partir de los cambios de comportamiento del animal que resultan del miedo generado por el hombre o por un ambiente novedoso<sup>(73)</sup>. En bovinos, los resultados de las pruebas que evalúan el temperamento pueden variar de acuerdo con la raza, género, experiencia y genética<sup>(74)</sup>. Se ha reportado que los animales *Bos indicus* y sus cruces son más temperamentales que los *Bos taurus*<sup>(73)</sup>, y los novillos son más tranquilos que las vaquillonas<sup>(75)</sup>. El temperamento nervioso se refiere a animales que reaccionan violentamente cuando son manejados por humanos, siendo este tipo de temperamento más difícil de manejar que los animales de temperamento dócil<sup>(75)</sup>. Existen varios métodos para determinar el temperamento en bovinos<sup>(76)</sup>. Algunas pruebas como la puntuación de la balanza son consideradas parcialmente subjetivas, pero otras pruebas como la distancia de fuga son pruebas objetivas que evalúan el desplazamiento del animal frente a la presencia humana<sup>(77)</sup>.

El temperamento de los bovinos es una característica cuantificable y heredable<sup>(78)</sup>, siendo utilizado para seleccionar animales de temperamento calmo mejorando las condiciones de manejo<sup>(79)</sup>. A la hora de medir el temperamento es importante utilizar métodos objetivos y considerar los factores que pueden afectar los resultados de estas pruebas. En grandes hatos bovinos el temperamento presenta una baja heredabilidad<sup>(80,81)</sup>, pero esto puede estar relacionado con la manera de obtener los resultados de las pruebas de temperamento. Comúnmente la evaluación del temperamento se realiza en forma simultánea en todo el hato bovino de un predio, o en parte de éste de acuerdo a los hatos que se manejen<sup>(82)</sup>. Normalmente sistemas pastoriles, presentan vacas con una gran variedad de estados reproductivos<sup>(83)</sup>, pudiendo coexistir vacas gestantes, en anestro y ciclando<sup>(84,85)</sup>. Los diferentes estados reproductivos de las

animales, being still scarce information in farm animals. The reduction of the stress response may be beneficial for the animal when it cannot be modify by the animal. These responses are costly and ineffective, so it is important to reduce the perception of the stressor or the costs of the response. In this sense, while the first results are promising, is necessary to develop further research related to the effects of the P4 on the stress response in ruminants, to understand the mechanisms by which it acts in these species, and how it could be used to improve the productive results and animal welfare.

*End of english version*

---

vacas determinan variaciones en las concentraciones de P4; por lo tanto, los diferentes estados reproductivos de las hembras podrían afectar el comportamiento reactivo del animal al manejo humano. Recientemente se comprobó que variaciones en la concentración de P4 afectan los resultados de las pruebas de temperamento en terneras<sup>(11)</sup>, las cuales al ser tratadas con P4 administrada a partir de un CIDR, presentaron menor distancia de fuga al humano que las terneras no tratadas, lo que indica menor reactividad al humano cuando los niveles de P4 están elevados. Por lo tanto, se sugiere que el estado reproductivo de los animales puede afectar la evaluación del temperamento, lo que debería ser considerado al trabajar en explotaciones en que pueda haber vacas en diferentes estados fisiológicos.

## CONCLUSIONES

Como se verificó, los tratamientos con P4 reducen la respuesta de estrés mediante varios mecanismos. Aunque los resultados de diversos estudios son consistentes, la mayoría de ellos se realizaron en animales de laboratorio, siendo aún escasa la información generada en animales de producción. La disminución de la respuesta

## PROGESTERONA Y RESPUESTA DE ESTRÉS. REVISIÓN

de estrés en situaciones que no pueden ser modificadas por el animal, como son la mayoría de las que surgen como consecuencia de manejos productivos, es beneficiosa para el animal. Estas respuestas son costosas e inefectivas, por lo que es importante disminuir la percepción del estresor o los costos de la respuesta. En este sentido, si bien los primeros resultados son auspiciosos, es necesario realizar más investigación relacionada a los efectos de la P4 sobre la repuesta de estrés en rumiantes, cuáles son los mecanismos por los que actúa en estas especies, y cómo podría ser utilizada para mejorar los resultados productivos y el bienestar animal.

## LITERATURA CITADA

- Johnson EO, Kamilaris TC, Chrousos GP, Gold PW. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neurosci Biobehav Rev* 1992;(16):115-130.
- Patchev VK, Shoaib M, Holsboer F, Almeida OFX. The neurosteroid tetrahydroprogesterone counteracts corticotropin-releasing hormone-induced anxiety and alters the release and gene expression of corticotropin-releasing hormone in the rat hypothalamus. *Neuroscience* 1994;(62):265-271.
- Barbaccia ML, Serra M, Purdy RH, Biggio G. Stress and neuroactive steroids. *Int Rev Neurobiol* 2001;(46):243-272.
- Wang M. Neurosteroids and GABA-A receptor function. *Front Endocrinol* 2011;(2):1-23.
- Patchev VK, Hassan AH, Holsboer DF, Almeida OF. The neurosteroid tetrahydroprogesterone attenuates the endocrine response to stress and exerts glucocorticoid-like effects on vasopressin gene transcription in the rat hypothalamus. *Neuropsychopharmacol* 1996;(5):533-540.
- Brunton PJ, McKay AJ, Ochedalski T, Piastowska A, Rebas E, Lachowicz A and Russell JA. Central opioid inhibition of neuroendocrine stress responses in pregnancy in the rat is Induced by the neurosteroid allopregnanolone. *J Neurosci* 2009;(29):6449-6460.
- Bitran D, Shiekh M, McLeod M. Anxiolytic effect of progesterone is mediated by the neurosteroid allopregnanolone at brain GABA<sub>A</sub> receptors. *J Neuroendocrinol* 1995;(3):171-177.
- Bitran D, Purdy RH, Kellogg CK. Anxiolytic effect of progesterone is associated with increases in cortical allopregnanolone and GABAA receptor function. *Pharmacol Biochem Behav* 1993;(45):423-428.
- Freitas-de-Melo A, Banchero G, Hötzel MJ, Damián JP, Ungerfeld R: Progesterone administration reduces the behavioural and physiological responses of ewes to abrupt weaning of lambs. *Animal* 2013;(7):1367-1373.
- Viérin M, Bouissou MF. Pregnancy is associated with low fear reactions in ewes. *Physiol Behav* 2001;(72):579-587.
- Magri G, Freitas-de-Melo A, Ungerfeld R. Progesterona y pruebas de evaluación de temperamento: distancia de fuga y velocidad de salida del tubo en terneras. Congreso Uruguayo de Producción Animal, 2013.
- Carrasco GA, Van de Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharm* 2003;(463):235-272.
- Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G. Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol* 2005;(67):259-84.
- Matteri RL, Carroll JA, Dyer CJ. Neuroendocrine responses to stress. In: Moberg GP, Mench JA. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge, Inglaterra: CABI Publishing; 2000;43-76.
- McEwen BS, Wingfield JC. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Horm Behav* 2003;(43):2-15.
- Earley B, Buckham-Sporer K, Gupta S, Pang W, Ting S. Biologic response of animals to husbandry stress with implications for biomedical models. *Anim Physiol* 2010;(2):25-42.
- Cunningham JC, Bradley KG. *Tratado de fisiología veterinaria*. 4<sup>ta</sup> ed. Rio de Janeiro, Brasil: Elsevier; 2008.
- Sabban EL. Catecholamines and stress. En: Soreq H, Friedman A, Kaufer D. *Stress: from molecules to behavior: a comprehensive analysis of the neurobiology of stress responses*. 1<sup>a</sup> ed. Weinheim, Alemania: Wiley Blackweel; 2010;19-36.
- Bush IE, Ferguson KA. The secretion of the adrenal cortex in sheep. *J Endocr* 1953;(10):1-8.
- Kudielka BM, Kirschbaum C. Sex differences in HPA axis responses to stress: a review. *Biol Psychol* 2007;(69):113-132.
- Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress response? Integrating, permissive, suppressive stimulatory and preparative actions. *Endocr Rev* 2000;(2):55-89.
- Griffin JFT. Stress and immunity: a Unifying concept. *Vet Immunol Immunop* 1989;(20):263-312.
- Pacák, K, Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocr Rev* 2001;(22):502-548.
- Maniam J, Morris MJ. The link between stress and feeding behaviour. *Neuropharmacology* 2012;(63):97-110.
- Moberg, GP. Biological response to stress: implications for animal welfare. In: Moberg GP, Mench JA. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. CABI Publishing, Wallingford, Reino Unido, 2001;1-21.
- Freitas-de-Melo A, Ungerfeld R. Destete artificial en ovinos: respuesta de estrés y bienestar animal. [enviado a *Rev Mex Cienc Pecu* 2015].
- Giriboni J, Lacuesta L, Damián JP, Ungerfeld, R, 2015. Grouping previously unknown bucks is a stressor with negative effects on reproduction. *Trop Anim Health Pro* 2015;(47):317-322.
- Schumacher M, Coirini H, Robert F, Guennoun R, El-Etr M. Genomic and membrane actions of progesterone: implications for reproductive physiology and behavior. *Behav Brain Res* 1999;(105):37-52.

29. McEwen BS. Non-genomic and genomic effects of steroids on neural activity. *Tips* 1991;(12):141-147.
30. King SR. Neurosteroids and the nervous system. 1ª ed. New York, USA: Springer; 2012.
31. Valera S, Ballivet M, Bertrand D. Progesterone modulates a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;(89):9949-9953.
32. Wu FS, Lai CP, Liu BC. Non-competitive inhibition of 5-HT<sub>3</sub> receptor-mediated currents by progesterone in rat nodose ganglion neurons. *Neurosci Lett* 2000;(278):37-40.
33. Olsen RW, Tobin AJ. Molecular biology of GABA receptors. *Faseb J* 1990;(4):1469-1480.
34. Wu FS, Gibbs TT, Farb DH. Inverse modulation of  $\gamma$ -aminobutyric acid- and glycine-induced currents by progesterone. *Mol Pharmacol* 1990;(37):597-602.
35. Seamark RF, Nancarrow CD, Gardiner J. Progesterone metabolism in ovine blood: the formation of 3 $\alpha$ -hydroxyprog-4-en-20-one and other substances. *Steroids* 1969;(15):589-604.
36. Corpechot C, Young J, Calvel M, Wehrey C, Veltz JN, Touyer G, *et al.* Neurosteroids: 3 alpha-hydroxy-5 alphapregnan-20-one and its precursors in the brain, plasma, and steroidogenic glands of male and female rats. *Endocrinology* 1993;(133):1003-1009.
37. Pluchino N, Cubeddu A, Giannini A, Merlini S, Cela V, Angioni S, Genazzani AR. Progestogens and brain: An update. *Maturitas* 2009;(62):349-355.
38. Compagnone NA, Mellon SH. Neurosteroids: biosynthesis and function of these novel neuromodulators. *Front Neuroendocrinol* 2000;(21):1-56.
39. Paul SM, Purdy RH. Neuroactive steroids. *Faseb J* 1992;(6):2311-2322.
40. Jiang P, Yang CX, Wang YT, Xu TL. Mechanisms of modulation of pregnanolone on glycinergic response in cultured spinal dorsal horn neurons of rat. *Neuroscience* 2006;(141):2041-2050.
41. Bullock AE, Clark AL, Grady SR, Robinson SF, Slobe BS, Marks MJ, Collins AC. Neurosteroids modulate nicotinic receptor function in mouse striatal and thalamic synaptosomes. *J Neurochem* 1997;(68):2412-2423.
42. Kaura V, Ingram CD, Gartside SE, Young AH, Judge SJ. The progesterone metabolite allopregnanolone potentiates GABA<sub>A</sub> receptor-mediated inhibition of 5-HT neuronal activity. *Eur Neuropsychopharm* 2007;(17):108-115.
43. Sedláček M, Kožínek M, Petrovič M, Cais O, Adamusová E, Chodounská H, Vyklický L. Jr. Neurosteroid modulation of ionotropic glutamate receptors and excitatory synaptic transmission. *Physiol Res* 2008;(97):49-57.
44. Lambert JJ, Cooper MA, Simmons RDJ, Weir CJ, Belelli D. Neurosteroids: endogenous allosteric modulators of GABA<sub>A</sub> receptors. *Psychoneuroendocrinol* 2009;(34):48-58.
45. Akk G, Covey DF, Evers AS, Steinbach JH, Zorumski CF, Mennerick S. Mechanisms of neurosteroid interactions with GABA<sub>A</sub> receptors. *Pharmacol Therapeut* 2007;(116):35-57.
46. Reddy DS, O'Malley BW, Rogawski MA. Anxiolytic activity of progesterone in progesterone receptor knockout mice. *Neuropharmacology* 2005;(48):14-24.
47. Hassell J, Miryalac CSJ, Hiegeld C, Uphouse L. Mechanisms responsible for progesterone's protection against lordosis-inhibiting effects of restraint I. Role of progesterone receptors. *Horm Behav* 2011;(60):219-225.
48. Uphouse L, Adams S, Miryala CSJ, Hassell J, Hiegel C. RU486 blocks effects of allopregnanolone on the response to restraint stress. *Pharmacol Biochem Behav* 2013;(103):568-572.
49. Uphouse L, Hiegel H. An antiprogesterin, CDB4124, blocks progesterone's attenuation of the negative effects of a mild stress on sexual behavior. *Behav Brain Res* 2013;(240):21-25.
50. Brinton RD, Thompson RF, Foy MR, Baudry M, Wang J, Finch CE, *et al.* Progesterone receptors: Form and function in brain. *Front Neuroendocrin* 2008;(29):313-339.
51. Bixo M, Bäckström T. Regional distribution of progesterone and 5 $\alpha$ -pregnane-3,20-dione in rat brain during progesterone-induced "anesthesia". *Psychoneuroendocrinol* 1990;(15):159-162.
52. Fraile IG, Mc Ewen BS, Pfaff DW. Progesterone inhibition of aggressive behaviors in hamsters. *Physiol Behav* 1986;(39):225-229.
53. Poindron P, Levy F, Keller M. Maternal responsiveness and maternal selectivity in domestic sheep and goats: the two facets of maternal attachment. *Dev Psychobiol* 2006;(49):54-70.
54. Ewbank E. Nursing and suckling behaviour amongst Clun Forest ewes and lambs. *Anim Behav* 1967;(15):251-258.
55. Arnold GW, Wallace SR, Maller RA. Some factors involved in natural weaning processes in sheep. *Appl Anim Ethol* 1979;(5):43-50.
56. Orgeur P, Bernard S, Naciri M, Nowak R, Schaal B, Levy F. Psychological consequences of two different weaning methods in sheep. *Reprod Nutr Dev* 1999;(39):231-244.
57. Cockram MS, Imlah P, Goddard PJ, Harkiss GD, Waran NK. The behavioural, endocrine and leucocyte response of ewes to repeated removal of lambs before the age of natural weaning. *Appl Anim Behav Sci* 1993;(38):127-142.
58. Pérez-León I, Orihuela A, Lidfors L, Aguirre V. Reducing mother young separation distress by inducing ewes into oestrous into day of weaning. *Anim Welf* 2006;(15):383-389.
59. Hearly PJ, Falk RH. Values of some biochemical constituents in the serum of clinically normal sheep. *Aust Vet J* 1974;(50):302-305.
60. Allison RW. Laboratory evaluation of plasma and serum proteins. In: Thrall MA. *Veterinary hematology and clinical chemistry*. 2ª ed. Oxford, Inglaterra: Blackwell Publishing; 2012;460-475.
61. Corner RA. Exposure of ewes to stressors in mid- and late pregnancy: Postnatal effects on the ewe and lamb. [doctoral thesis]. Palmerston North, New Zealand: Massey University; 2007.
62. Carcangiu V, Vacca GM, Parmeggiani A, Mura MC, Pazzola M, Dettori ML, Bini PP. The effect of shearing procedures on blood levels of growth hormone, cortisol and other stress haematochemical parameters in Sarda sheep. *Animal* 2008;(2):606-612.
63. Aleksiev Y. The effect of shearing on the behaviour of some physiological responses in lactating Plevan Blackhead ewes. *Bulg J Agric Sci* 2009;(15):446-452.

## PROGESTERONA Y RESPUESTA DE ESTRES. REVISIÓN

64. Yardimci M, Sahin EH, Cetingul IS, Bayram I, Aslan R, Sengor E. Stress responses to comparative handling procedures in sheep. *Animal* 2013;(7):143-150.
65. Corner RA, Kenyon PR, Stafford KJ, West DM, Oliver MH. The effect of mid-pregnancy shearing or yarding stress on ewe post-natal behavior and the birth weight and post-natal behavior of their lambs. *Liv Sci* 2006;(102):121-129.
66. Sanger ME, Doyle RE, Hinch GN, Lee. Sheep exhibit a positive judgement bias and stress-induced hyperthermia following shearing. *Appl Anim Behav Sci* 2011;(131):94-103.
67. Piccione G, Caola G. Influence of shearing on the circadian rhythm of body temperature in the sheep. *J Vet Med A* 2003;(50):235-240.
68. Mousa-Balabel TM, Salama MA. Impact of shearing date on behaviors and performances of pregnant Rahmani ewes. *Acad Sci Eng Tech* 2010;(41):1196-1200.
69. Dýrmondsson OR. Shearing time of sheep with special reference to conditions in northern Europe: a review. *Icel Agr Sci* 1991;(5):39-46.
70. Al-Ramamneh D, Gerken M, Riek A. Effect of shearing on water turnover and thermobiological variables in German Blackhead mutton sheep. *J Anim Sci* 2011;(89):4294-4304.
71. Kenyon PR, Morris ST, Revell DK, McCutcheon SN. Nutrition during mid to late pregnancy does not affect the birth weight response to mid pregnancy shearing. *Austr J Agric Res* 2002;(53):13-20.
72. Piccione G, Casella S, Alberghina D, Zumbo A, Pennisi P. Impact of shearing on body weight and serum total proteins in ewes. *Spanish J Agric Res* 2010;(8):342-346.
73. Fordyce G, Dodt RM, Wythes JR. Cattle temperaments in extensive herds in northern Queensland. *Australian J Exp Agric* 1988;(28):683.
74. Grandin T. Behavioral agitation during handling of cattle is persistent over time. *Appl Anim Behav Sci* 1993;(36):1-9.
75. Fordyce G, Goddard M, Tyler R, Williams G, Toleman M. Temperament and bruising of *Bos indicus* cross Cattle. *Aust J Exp Agr* 1985;(25):283-288.
76. Waiblinger S, Boivin X, Pedersen V, Tosi M-V, Janczak AM, Visser EK, Jones RB. Assessing the human-animal relationship in farmed species: a critical review. *Appl Anim Behav Sci* 2006;(101):185-242,
77. Cooke RF, Bohnert DW, Meneghetti M, Losi TC, Vasconcelos JLM. Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef cows. *Livest Sci* 2011;(142):108-113.
78. Aguilar N, Balbuena O, Kucseva D, Navamuel J. Evaluación del temperamento en bovinos cruza cebú. Universidad Nacional del Nordeste: Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. 2004. <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2004/4-Veterinaria/V-028.pdf>. Consultado 18 dic, 2013.
79. Tozser J, Maros K, Szentléleki A, Zándoki R, Nikodémusz E, Balázs F, *et al.* Evaluation of temperament in cows of different age and bulls of different colour variety. *Czech J Anim Sci* 2003;(48):344-348.
80. Paranhos Da Costa MJR, Sant'Anna AC, Rueda PM, Baldi F, Albuquerque LG. Correlação genética entre três tipos de indicadores do temperamento de bovinos. Congresso Latino Americano de Etologia Aplicada. Ilhéus, Brasil. 2011:CD-ROM.
81. Santanna A, Paranhos da Costa MJR, Rueda P-M, Soares DRS, Wemelsfelder F. A comparison of three cattle temperament assessment methods. [abstract]. *Cong Int Soc Appl Ethology*. Indianápolis, Estados Unidos. 2011;(45):121.
82. Burrow HM. Variances and covariances between productive and adaptive traits and temperament in a composite breed of tropical beef cattle. *Livest Prod Sci* 2001;(70):213-233.
83. Voisin BD, Grandin T, Tatum JD, O'Connor SF, Struthers JJ. Feedlot cattle with calm temperaments have a higher average daily weight gains the cattle with excitable temperaments. *J Anim Sci* 1997;(75):892-896.
84. Menchaca A, Chifflet N. Caracterización de la actividad ovárica al inicio del servicio en rodeos de cría. [resumen]. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Uruguay 2005:11.
85. Ungerfeld R. Exposure to androgenized steers did not improve the fertility obtained in progesterone-based fixed-timed artificial insemination programs in extensively managed cows and heifers. *Anim Prod Sci* 2010;(50):68-71.