

Universitat Politècnica de València.

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio
Natural

Ingeniería Agroalimentaria y del Medio Rural



**INFORME SOBRE LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN DOS
LÍNEAS COMERCIALES DE CONEJO**

Trabajo Final de Grado

Autor: Salvador Vicente Ibáñez Sabater

Tutora: María Antonia Santacreu Jerez

València, Julio de 2021

Informe sobre la respuesta inflamatoria en dos líneas comerciales de conejo.

Resumen.

El aumento de la producción se ha relacionado con una disminución de la capacidad de los animales para responder a los desafíos ambientales, lo que ha repercutido en su longevidad. Así, actualmente el ganadero tiene interés por disponer de animales más robustos, es decir animales más resilientes y menos sensibles al estrés frente a los desafíos ambientales y productivos. Se han propuesto diferentes biomarcadores asociados al estrés y a la respuesta inflamatoria como una forma indirecta de estimar la menor o mayor sensibilidad de los animales. Estos biomarcadores intervendrían en los procesos biológicos que subyacen a la resiliencia y que se relacionan con la respuesta adaptativa que ocurre para minimizar el impacto de los factores estresantes. El objetivo de este trabajo consiste en estudiar si existen diferencias en la respuesta inflamatoria en un momento de desafío productivo, 24 horas después del parto, en 67 hembras de dos líneas de conejos, una línea fundada en base a criterios de alta longevidad (línea B) y otra de longevidad estándar (línea A). Como marcador para medir el estrés se analizó la concentración de cortisol en sangre, las líneas no presentaron diferencias significativas ni relevantes en los niveles de cortisol ($A_1=32.7$ ng/ml, $B_1=36.6$ ng/ml, $B_{>18}= 37.1$ ng/ml, $p=0.56$) por lo que ambas líneas se encontraban bajo una situación de estrés similar. Para medir la respuesta inflamatoria se analizaron las concentraciones de 3 citoquinas: IL-1 β , IL-6 y TNF- α . Las líneas no presentaron diferencias significativas ni relevantes en las concentraciones de IL-1 β ($A_1=5.6$ pg/ml, $B_1=5.1$ pg/ml, $B_{>18}= 4.4$ pg/ml, $p=0.86$) e IL-6 ($A_1=231.1$ pg/ml, $B_1=241.1$ pg/ml, $B_{>18}= 250.3$ pg/ml, $p=0.88$), mientras que la línea A presentó una mayor concentración de TNF- α respecto a la línea B ($A_1=32.6$ pg/ml, $B_1=22.7$ pg/ml, $B_{>18}= 21.4$ pg/ml, $p=0.0009$). Esta mayor concentración de TNF- α apoyaría una mayor susceptibilidad de esta línea a padecer enfermedades. No se presentaron diferencias significativas ni relevantes entre las hembras primíparas de la línea B y las hembras múltiparas con más de 18 partos de la misma línea para ninguno de los marcadores estudiados. El conjunto de resultados apoyaría la hipótesis de partida y es que los animales de la línea B son animales más resilientes que los de la línea A.

Palabras clave: Longevidad, Producción, Resiliencia, Respuesta inflamatoria.

Report on inflammatory response in two commercial rabbit lines.

Abstract.

Production increase has been associated to a decreased ability of the animals to respond to environmental challenges, which has affected their longevity. Currently, farmers are interested in more robust animals, that is, animals that are more resilient and less sensitive to stress when they have overcome environmental and production challenges. Different biomarkers associated with stress and the inflammatory response have been proposed as an indirect way to estimate the lower or higher sensitivity of the animals. These biomarkers would take part in the biological processes that underlie resilience and they are related to the adaptive response that happens to minimize the impact of stressors. The objective of this project is to check if there are any differences in the inflammatory response at a time of productive challenge, 24 hours after delivery, in 67 females from two lines of rabbits, a line founded by high longevity criteria (line B) and another of standard longevity (line A) and check which line has a higher resilience. The concentration of cortisol in blood was analysed as a stress marker, the lines presented neither significant nor relevant differences in cortisol levels ($A_1=32.7$ ng/ml, $B_1=36.6$ ng/ml, $B_{>18}= 37.1$ ng/ml, $p=0.56$) so both lines were under a similar stress environment. To measure the inflammatory response, the concentrations of 3 cytokines were analysed: IL-1 β , IL-6 and TNF- α . The lines presented neither significant nor relevant differences in IL-1 β ($A_1=5.6$ pg/ml, $B_1=5.1$ pg/ml, $B_{>18}= 4.4$ pg/ml, $p=0.86$) and IL-6 ($A_1=231.1$ pg/ml, $B_1=241.1$ pg/ml, $B_{>18}= 250.3$ pg/ml, $p=0.88$), while line A obtained a higher concentration of TNF- α compared to line B ($A_1=32.6$ pg/ml, $B_1=22.7$ pg/ml, $B_{>18}= 21.4$ pg/ml, $p=0.0009$). This higher concentration of TNF- α would suggest a higher inflammatory response in line A and therefore indicates a higher susceptibility to diseases. There were neither significant nor relevant differences between the primiparous females of the B line and the multiparous females with more than 18 deliveries of the same line for any of the markers studied. These results would confirm that the mothers of line B are more resilient than those of line A.

Keywords: Longevity, Production, Resilience, Inflammatory response.

AGRADECIMIENTOS

Después de estos meses me gustaría concluir agradeciendo a mi tutora Toñi por su inestimable ayuda y guía durante la realización del trabajo, también me gustaría agradecer a Tamara y a Rafa por su ayuda en la granja. Por último, agradecer a la familia y amigos por permitirme llegar hasta aquí.

Gracias a todos.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 SITUACIÓN ACTUAL DEL SECTOR CUNÍCOLA.....	1
1.1.1 <i>Situación en España</i>	1
1.1.2 <i>Situación en el mundo</i>	3
1.2 CARACTERES DE INTERÉS EN CUNICULTURA.....	3
1.3 RESILIENCIA.....	5
1.3.1 <i>Marcadores de estrés y resiliencia</i>	5
2. OBJETIVOS.....	8
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
3.1 MATERIAL ANIMAL.....	9
3.1.1 <i>Línea A</i>	9
3.1.2 <i>Línea B</i>	9
3.2 TOMA DE MUESTRAS.....	10
3.3 MARCADORES DE RESILIENCIA ESTUDIADOS.....	11
3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
5. CONCLUSIONES.....	17
6. BIBLIOGRAFÍA.....	18

ÍNDICE TABLAS

TABLA 1.1. RESUMEN FUNCIONES CITOQUINAS (GOLDSBY ET AL., 2002)	7
TABLA 3.1. NÚMERO DE HEMBRAS USADAS DE CADA LÍNEA PARA LOS MARCADORES DE RESILIENCIA ESTUDIADOS.	11
TABLA 3.2. NÚMERO DE HEMBRAS DE PRIMER PARTO Y MULTÍPARAS DE LA LÍNEA B USADAS PARA LOS MARCADORES DE RESILIENCIA ESTUDIADOS.	12
TABLA 4.1. RESUMEN PARÁMETROS DESCRIPTIVOS DE LAS LÍNEAS Y ORDEN DE PARTO ESTUDIADOS.	14
TABLA 4.2. MEDIAS POR MÍNIMOS CUADRADOS Y SU ERROR ESTÁNDAR ENTRE PARÉNTESIS DE LOS CARACTERES ESTUDIADOS EN FUNCIÓN DE LA LÍNEA Y EL NÚMERO DE PARTOS.	14

ÍNDICE FIGURAS

FIGURA 1.1. EVOLUCIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE CARNE DE CONEJO EN ESPAÑA. MAPAMA (2021)	1
FIGURA 1.2 DISTRIBUCIÓN DE LAS EXPLOTACIONES POR CCAA. MAPAMA (2021).....	1
FIGURA 1.3 CENSO DE CONEJOS EN ESPAÑA. MAPAMA (2021).....	2
FIGURA 1.4 EVOLUCIÓN DEL PRECIO DE CONEJO DURANTE EL AÑO. MAPAMA (2021).....	2
FIGURA 1.5 EVOLUCIÓN DEL CONSUMO DE CARNE DE CONEJO. MAPAMA (2021)	2
FIGURA 1.6 PROPORCIÓN DE PRODUCCIÓN DE CARNE DE CONEJO POR CONTINENTES. FAOSTAT 2019.....	3
FIGURA 1.7 LOS 10 PRINCIPALES PRODUCTORES DE CARNE DE CONEJO. FAOSTAT 2019	3
FIGURA 1.8. ESQUEMA CRUCE A TRES VÍAS (ADAPTADO DE RAFEL Y RAMÓN, 2016).....	4
FIGURA 1.9 VISTA GENERAL DE LAS CÉLULAS Y MEDIADORES IMPLICADOS EN LA RESPUESTA INFLAMATORIA AGUDA LOCAL (GOLDSBY ET AL., 2002).....	6
FIGURA 3.1. HEMBRA LÍNEA A.	9
FIGURA 3.2. RESUMEN PASOS TOMA DE MUESTRAS.	10
FIGURA 3.3. A: ARTERIA AURICULAR; B: EXTRACCIÓN DE SANGRE.	10
FIGURA 3.4. DETALLE DE LA CENTRÍFUGA.	11
FIGURA 3.5. A: PLASMA EN TUBO K-EDTA; B: PLASMA EN EPPENDORF.	11
FIGURA 3.6. EJEMPLO CURVA DE REGRESIÓN LOGÍSTICA DE CUATRO PARÁMETROS (4PL) PARA TNF-A	12
FIGURA 4.1. GRÁFICOS CAJA Y BIGOTES PARA LAS CONCENTRACIONES DE LOS DISTINTOS MARCADORES DE RESILIENCIA ESTUDIADOS	13

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 SITUACIÓN ACTUAL DEL SECTOR CUNÍCOLA.

1.1.1 Situación en España

La carne de conejo representa el quinto tipo de carne más consumido tras el porcino, aves, vacuno y ovino-caprino, aunque guarda un importante componente cultural. España es uno de los principales productores mundiales de carne de conejo, liderando junto con Italia y Francia la producción en la UE (MAPAMA, 2021). Durante los últimos años se ha desarrollado una profesionalización del sector favoreciendo la concentración de la producción en cunicultores profesionales en detrimento de la producción local de autoconsumo, así mismo desde el año 2015 se observa un descenso paulatino en la producción obteniéndose en 2019 un total de 52.143 toneladas (Figura 1.1).

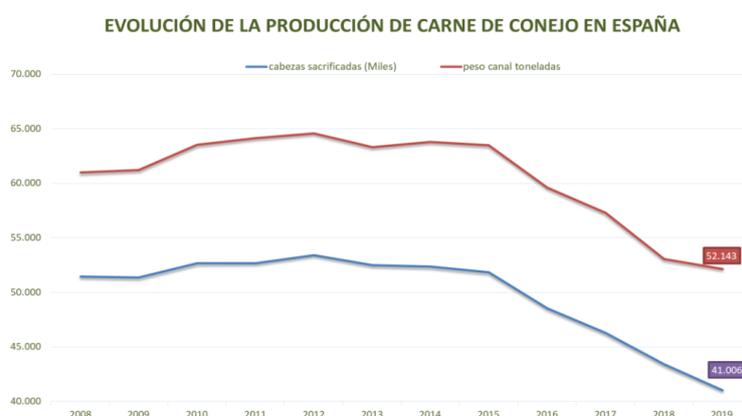


Figura 1.1. Evolución de la producción de carne de conejo en España. MAPAMA (2021).

La mayor concentración de explotaciones se da en Cataluña, aunque estas son de menor tamaño, menos de 400 madres, mientras que las explotaciones más grandes, más de 800 madres, se encuentran distribuidas por Castilla y León, Galicia o Valencia (Figura 1.2).



Figura 1.2 Distribución de las explotaciones por CCAA. MAPAMA (2021).

En cuanto al censo, los registros de 2019 reflejaron una reducción del 1,73% respecto a la cifra de la misma fecha de 2018 (Ministerio de agricultura, pesca y alimentación, 2021), concentrándose más del 80% en Castilla y León, Cataluña, Galicia, Aragón y Comunidad Valenciana (Figura 1.3).

Censo de conejos en España por CCAA

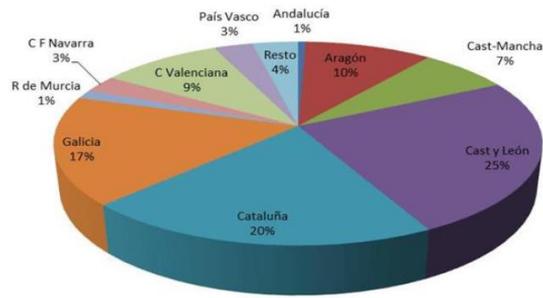


Figura 1.3 Censo de conejos en España. MAPAMA (2021).

Respecto al precio se ha mantenido la tendencia habitual la cual consiste en una ligera subida en primavera seguida de una importante subida después del verano para después finalizar el año con una caída de precio considerable. En 2019 se alcanzó la cifra récord de 2,351€/kg en las semanas 44 y 45 (cifra que es un 0,29% superior a la cifra más alta alcanzada en 2018). La media interanual se situó en 1,973€/kg, un 7,42% superior al precio medio de 2018 y muy superior al precio medio de los últimos 5 años (Ministerio de agricultura, pesca y alimentación, 2021) (Figura 1.4).



Figura 1.4 Evolución del precio de conejo durante el año. MAPAMA (2021)

El consumo de carne de conejo sufre desde hace años un descenso paulatino y preocupante debido, entre otras cosas, a una baja aceptación entre la población joven de este tipo de carne. En 2019 el consumo mantiene su tendencia descendente con una significativa caída del 5,8%, lo que pone en evidencia el gran problema actual de este sector (Ministerio de agricultura, pesca y alimentación, 2021) (Figura 1.5).

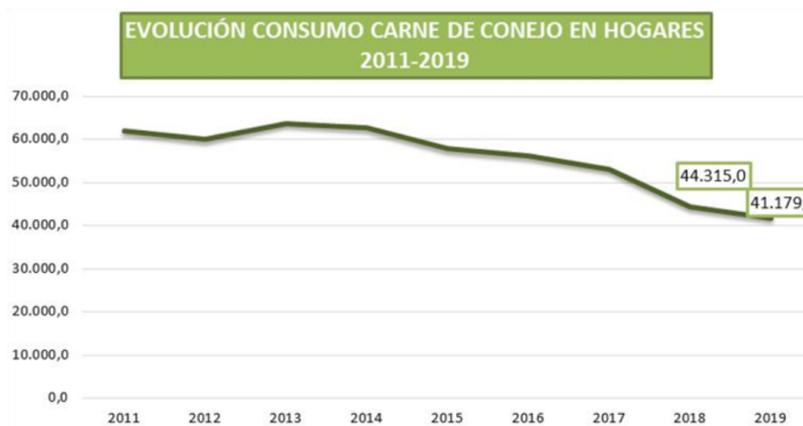


Figura 1.5 Evolución del consumo de carne de conejo. MAPAMA (2021)

1.1.2 Situación en el mundo.

El sector cunícola tiene gran importancia en Asia donde supone el 70.9 % de la producción total de carne de conejo del mundo (Figura 1.6), siendo el mayor productor China con una producción aproximada de 457.000 toneladas seguido de la República Popular Democrática de Corea con casi 167.000 toneladas (Figura 1.7).

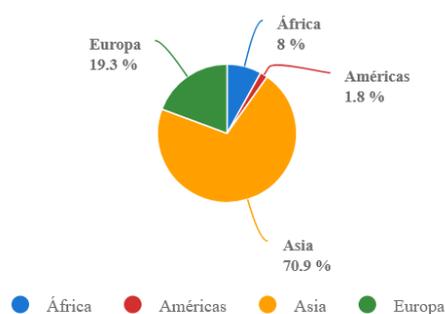


Figura 1.6 Proporción de producción de carne de conejo por continentes. FAOSTAT 2019.

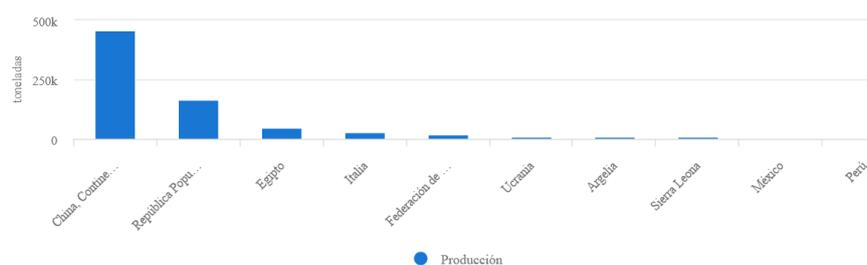


Figura 1.7 Los 10 principales productores de carne de conejo. FAOSTAT 2019

1.2 CARACTERES DE INTERÉS EN CUNICULTURA.

Los caracteres productivos más importantes en cunicultura pueden dividirse en 3 grupos:

- Caracteres reproductivos donde podemos encontrar fertilidad, fecundidad, prolificidad, número de nacidos vivos, número de destetados. El objetivo productivo es mejorar el número de gazapos destetados por unidad de tiempo y el criterio de selección es habitualmente el tamaño de camada al destete (Blasco et al., 1984).
- Caracteres de crecimiento entre los cuales se encuentran peso individual al destete, peso individual al sacrificio, consumo medio diario, aumento de peso del destete al sacrificio. El objetivo productivo se trata de conseguir el máximo crecimiento usando eficazmente el alimento, y los caracteres objetivo de la selección son la velocidad de crecimiento y el índice de conversión (Blasco et al., 1984).
- Caracteres relacionados con la canal, se tratan entre otros del peso de la canal caliente, peso de la canal a las 24 horas del sacrificio, relación carne/hueso y calidad de la carne (Blasco et al., 1984). El rendimiento al sacrificio es el que tiene una mayor relación con el precio de venta.

La mejora genética de los caracteres productivos de interés económico ha jugado un papel importante en el aumento de la producción. En la mayoría de los programas de selección de las

líneas comerciales, los criterios de selección son el tamaño de camada al destete en las líneas maternas y la velocidad de crecimiento en las líneas paternas. Es habitual que estas líneas maternas y paternas se crucen para obtener el producto comercial (figura 1.8). El cruzamiento más utilizado en cunicultura es el denominado cruzamiento a 3 vías que consiste en cruzar 2 líneas maternas, aprovechando la heterosis del cruzamiento para mejorar los caracteres reproductivos y hacer desaparecer la consanguinidad acumulada (Baselga et al., 2014; Gómez y Santacreu, 1996), para obtener una hembra híbrida que posteriormente se cruzará con una línea paterna que aportará los caracteres de crecimiento y calidad de canal complementando así los caracteres maternos (Baselga et al., 2014; Gómez y Santacreu, 1996). Este cruzamiento de la hembra híbrida con el macho paterno dará como resultado el gazapo comercial (Figura 1.8).

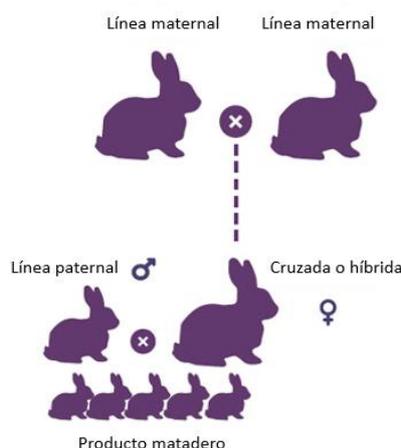


Figura 1.8. Esquema cruce a tres vías (Adaptado de Rafel y Ramón, 2016).

En cunicultura, estos esquemas de cruzamiento comenzaron a desarrollarse en los años 70 por el INRA en Francia (Fernández, 2016), posteriormente a principios de los 80 se iniciaron los programas de selección de la Universitat Politècnica de València y del IRTA en Cataluña (Blasco, 2002). La estructura adoptada para este desarrollo de la mejora genética será la estructura piramidal propia de otros animales de producción como es el caso del porcino. En lo alto de la pirámide encontramos los denominados núcleos de selección que serán los encargados de seleccionar las líneas maternas y paternas especializadas (Fernández, 2016), por debajo de estos núcleos de selección se encuentran las granjas de multiplicación que sirven como nexo de unión entre el núcleo de selección y las granjas de producción (Mínguez, 2011). En el sector cunícola son poco habituales las granjas multiplicadoras, siendo habitual que esta multiplicación se de en las propias granjas de producción.

Actualmente se están revisando los objetivos de selección debido a que, aunque se hayan aumentado los niveles de producción de la mayoría de las especies ganaderas, se ha visto que estos animales que han sido seleccionados para una alta producción parece que también pueden tener un mayor riesgo a la hora de que aparezcan problemas de comportamiento, fisiológicos e inmunológicos (Rauw et al., 1998). Así, se está buscando conseguir animales que sean más resilientes que se adapten bien a los nuevos retos como el cambio climático, y a nuevos sistemas de producción acorde a los cambios en la legislación de bienestar animal. Recientemente desde Europa se están dando pasos que se encaminan hacia una prohibición de las jaulas. La Comisión Europea ha respondido positivamente a la Iniciativa Ciudadana Europea “End the Cage Age”. La CE está estudiando una propuesta legislativa para prohibir las jaulas y se prevé que entrará en vigor a partir del 2027. Entre los animales afectados se encuentran

animales ya incluidos en la legislación: gallinas ponedoras, cerdas y terneros, y otros animales como los conejos, pollitas, reproductoras de gallinas ponedoras, reproductoras de pollos de engorde, codornices, patos y gansos (AGRODIGITAL, 2021)

1.3 RESILIENCIA.

Berghof et al. (2019) define la resiliencia como la capacidad del animal para ser mínimamente afectado por los cambios ambientales o la capacidad de recuperar rápidamente el estado en el que se encontraba antes de la exposición al cambio ambiental. Colditz y Hine (2016) indican que los cambios ambientales que sufren los animales pueden ser desafíos episódicos, los cuales conllevan respuestas de estrés agudo y que son superados por el aprendizaje, y desafíos persistentes o crónicos a los que el animal se ajusta por vía innata, también indican que la resiliencia está compuesta por diferentes tipos de resiliencias como pueden ser la resiliencia a enfermedades o la resiliencia al estrés por calor (Colditz y Hine, 2016). Los animales menos resistentes serán más susceptibles a las perturbaciones ambientales, como por ejemplo a las enfermedades, y como consecuencia tendrán una mayor variación en la producción que los animales más resistentes (Berghof et al., 2019). Mulder y Rashidi (2017) diferencian resistencia y tolerancia a la enfermedad, siendo la resistencia la habilidad del animal para restringir el ciclo de vida del patógeno, y la tolerancia la habilidad del animal para minimizar los daños productivos que se pueden dar por la infección. Tradicionalmente, la ganadería ha buscado animales cada vez más y más productivos que ha llevado también a animales cada vez más dependientes y con una menor tolerancia a los cambios ambientales. Actualmente, los ganaderos están también interesados en la búsqueda de animales cada vez más resilientes que conlleve una mejora de la productividad pese a que estén en condiciones ambientales adversas. Como dice Mulder (2019), criar para mejorar la resiliencia es beneficioso tanto para la satisfacción laboral de los ganaderos, debido a que perderán menos tiempo por animal en general, así como para la propia resiliencia de los animales y, concluye que la mejora de la resiliencia puede llevar a un menor progreso genético en los caracteres productivos, pero a una mejora general a nivel de granja (Mulder, 2019). Estos animales más resilientes además del beneficio económico que conllevan debido a lo anteriormente mencionado también pueden presentar un beneficio social y medioambiental, como se ha visto en cerdos donde las madres más resilientes son más capaces de cuidar de sí mismas y a los lechones, reduciendo la intervención humana necesaria; además, estos lechones serán más autosuficientes durante su crecimiento. Estos cerdos más resilientes también necesitan menos recursos para crecer y producir y, en general cada generación es más productiva que la anterior reduciendo así la huella medioambiental (Miller, 2021).

1.3.1 Marcadores de estrés y resiliencia.

Tradicionalmente se ha medido la resiliencia a partir de procesos o situaciones que provocan una respuesta del animal frente a situaciones estresantes. Uno de los procesos biológicos relacionados con la resiliencia es la respuesta inflamatoria frente a un factor estresante. La inflamación es una respuesta fisiológica a un factor estresante como puede ser una infección o una lesión tisular (Goldsby et al., 2002) o un desafío productivo o ambiental.

La respuesta inflamatoria es un proceso complejo que envuelve un gran número de moléculas (Del Giudice y Gangestad, 2018) como se puede ver en la figura 1.9. Las citoquinas como la interleuquina 6 (IL-6) y el factor necrosis tumoral alfa (TNF- α), junto a la proteína C -reactiva (CRP) son de los marcadores más utilizados principalmente como biomarcadores del proceso inflamatorio (Baumeister et al., 2016 en humanos; Eckersall et al., 1996 en cerdos; Beloumi et al., 2020 en conejos). En el estudio de Beloumi et al. (2020) se evaluó la respuesta inflamatoria

después del primer parto en dos líneas de conejos, una seleccionada por homogeneidad del tamaño de camada (low variability line; Línea L) y la otra por heterogeneidad del tamaño de camada (high variability line, línea H). La línea H presentó mayor concentración de TNF- α (+13.8 pg/mL, $p = 0.90$) lo que está relacionado con una mayor susceptibilidad a enfermedades. Otros autores también han relacionado una mayor variabilidad de la producción a lo largo de la vida productiva del animal con una mayor sensibilidad de los animales a los desafíos, con las implicaciones económicas que conlleva (Berghof et al., 2019).

En este trabajo nos vamos a centrar en la interleuquina 1- β (IL-1 β), IL-6, TNF- α y en los niveles de un marcador de estrés que es el cortisol como indicadores de una mayor o menor resiliencia en dos líneas con diferente longevidad, las líneas A y B.

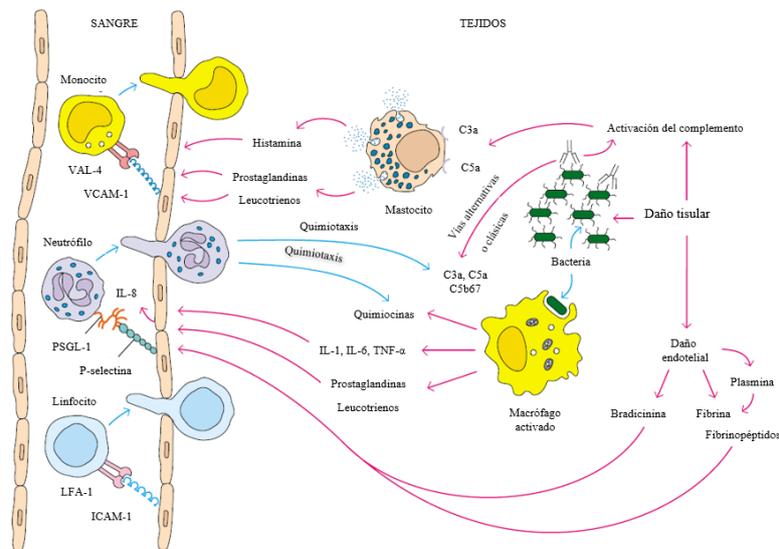


Figura 1.9 Vista general de las células y mediadores implicados en la respuesta inflamatoria aguda local (Goldsby et al., 2002)

INTERLEUQUINA 1- β (IL-1 β)

La interleuquina 1- β (IL-1 β) se describió originalmente en 1940 como una proteína termolábil presente en el fluido de exudados granulocíticos de animales o humanos con fiebre (Rivera et al., 2007). Se trata de una citoquina proinflamatoria que es liberada por monocitos y macrófagos, y entre sus funciones destacan: Inducción a la fiebre, síntesis de proteínas de fase aguda por el hígado, aumenta la permeabilidad vascular, produce un reclutamiento de leucocitos en el lugar de la infección o lesión, activa los linfocitos T y B, produce una proliferación de los fibroblastos y un aumento de la producción de plaquetas, potencia a los neutrófilos e induce la producción de IL-6 (Goldsby et al., 2002; MISISTEMAINMUNE, 2021).

INTERLEUQUINA 6 (IL-6)

La interleuquina 6 (IL-6) fue descubierta como un factor derivado de los linfocitos T activados que promovía la secreción de inmunoglobulinas en los linfocitos B, sin inducir proliferación (Gallart, 2018). Es una citoquina importante dentro del sistema inmunitario, su producción viene favorecida por la acción de la IL-1 en las células T, macrófagos o en los fibroblastos. Entre sus funciones encontramos: es un mediador de la fiebre, síntesis de proteínas de fase-aguda por el hígado, aumenta la permeabilidad vascular, presenta una acción sobre los linfocitos B favoreciendo la síntesis de anticuerpos, promueve la activación de los linfocitos TH17,

encargados de la protección frente infecciones bacterianas, e inhibe los linfocitos T reguladores, encargados de suprimir la respuesta inmune, además, aumenta la producción de plaquetas e incrementa la síntesis de inmunoglobulinas (Goldsby et al., 2002; MISISTEMAINMUNE, 2021).

FACTOR NECROSIS TUMORAL ALFA (TNF- α)

El factor necrosis tumoral alfa (TNF- α) es una citoquina proinflamatoria producida por macrófagos y tiene una función importante en el mecanismo de defensa innato (Amanda et al., 2009). Entre sus funciones podemos destacar: acción proinflamatoria por sí mismo y mediante la regulación de IL-1 y IL6, regulador de la fiebre, síntesis de proteínas de fase-aguda por el hígado, aumenta la permeabilidad vascular, reclutamiento de linfocitos y neutrófilos, produce una proliferación de los fibroblastos, favorece la activación de linfocitos T y B, y a nivel tisular interviene en la remodelación y recuperación de tejidos (Goldsby et al., 2002; MISISTEMAINMUNE, 2021). Una mayor concentración de TNF- α está relacionada con una mayor susceptibilidad a enfermedades (Bruunsgaard et al., 1999).

En la tabla 1.1 se puede observar un resumen de las funciones de estas citoquinas.

Tabla 1.1. Resumen funciones citoquinas (Goldsby et al., 2002)

Efecto	IL-1	TNF- α	IL-6
Fiebre por pirógenos endógenos	+	+	+
Síntesis de proteínas de fase aguda por el hígado	+	+	+
Incremento permeabilidad vascular	+	+	+
Aumento de las moléculas de adhesión en el endotelio vascular	+	+	-
Proliferación de fibroblastos	+	+	-
Producción de plaquetas	+	-	+
Inducción de quimiocina (e.g., IL-8)	+	+	-
Inducción de IL-6	+	+	-
Activación linfocitos T	+	+	+
Activación linfocitos B	+	+	+
Aumento síntesis de inmunoglobulina	-	-	+

IL-1: Interleuquina 1; IL-6: Interleuquina 6; TNF- α : Factor necrosis tumoral α .

CORTISOL

El cortisol es una hormona esteroidea que es producida en las glándulas suprarrenales como una respuesta al estrés. Entre sus funciones podemos encontrar las siguientes: regular el nivel de azúcar en sangre, combatir las infecciones, regular el metabolismo de grasas, proteínas y carbohidratos y mantener la presión arterial (MEDLINEPLUS, 2021). Al estar relacionado con la respuesta al estrés, el cortisol es utilizado tradicionalmente como un indicador del nivel de estrés y dolor que puede estar sufriendo un animal.

El parto se considera como un evento estresante para la hembra y los nacidos, que lleva asociado dolor y trauma y que puede tener efectos negativos en el bienestar, salud y producción de los animales de granja (Mainau y Manteca, 2011). El parto conlleva unos niveles altos de estrés que pueden alterar los procesos normales (Mainau y Manteca, 2011). La medición de la concentración de los biomarcadores de la respuesta inflamatoria mencionados anteriormente y la medida del cortisol en un momento cercano a un factor estresante como el parto puede ayudar a conocer mejor la relación entre estos marcadores y la resiliencia de los animales.

2. OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

Estudiar algunos de los marcadores de resiliencia relacionados con la respuesta inflamatoria y el estrés en dos líneas comerciales distintas de conejos, líneas A y B. La línea B fue fundada con criterios de elevada longevidad y una prolificidad media y la línea A fue fundada partir de conejos de la raza Neozelandesa Blanca sin tener en cuenta criterios de longevidad y prolificidad.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Conocer los valores de IL-1 β , IL-6, TNF- α y cortisol, 24 horas después del primer parto en hembras de ambas líneas.
- Estudiar si existen diferencias en la respuesta inflamatoria y el nivel de estrés de ambas líneas después del parto usando para ello los marcadores citados.
- Estudiar si existen diferencias en la respuesta inflamatoria y el nivel de estrés entre hembras de primer parto y hembras con más de 18 partos.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.1 MATERIAL ANIMAL.

Para la realización del trabajo se han utilizado un total de 80 hembras, 48 hembras de la línea B y 31 de la línea A. En la línea B, 38 hembras eran primíparas y la muestra se tomó 24 horas después del primer parto y 10 hembras eran múltiparas con más de 18 partos; en esas hembras la muestra se tomó 24 horas después del parto. En la línea A, las 31 hembras eran primíparas y la muestra se tomó 24 horas después del primer parto.

La toma de muestras se llevó a cabo del 3 de mayo al 13 de junio. Las hembras se encontraban en jaulas individuales de alambre galvanizado de dimensiones 50x80x35 cm con un nidal para los recién nacidos, estas jaulas se encontraban en una nave con el ambiente controlado de la granja de la Universitat Politècnica de València. Las conejas pasan a la nave de reproducción aproximadamente a los 4 meses, donde son alimentadas con pienso Cv-Cunilactal Start Nc1 G GR que presenta la siguiente composición: 17% proteína bruta, 3.5% grasa bruta, 15.5% fibra bruta, 7.9% ceniza bruta, 1% calcio, 0.55% fósforo y 0.20% sodio.

3.1.1 Línea A.

Esta línea se funda en 1976 a partir de conejos de la raza Neozelandesa Blanca (NZW) que eran criados en las proximidades de Valencia, el criterio para la creación de esta línea fue que los animales estuvieran sanos y que fueran pertenecientes a dicha raza (Escrich, 2018). A partir de la tercera generación la línea comienza a seleccionarse por un índice familiar para aumentar el tamaño de camada al destete (Baselga et al., 1984; Estany et al., 1989), las hembras se seleccionan de los mejores apareamientos y los machos se seleccionan dentro de una misma familia (Escrich, 2018). Actualmente se encuentra en la generación 53 estando la línea cerrada desde la fundación.



Figura 3.1. Hembra Línea A.

3.1.2 Línea B.

Línea longevo-productiva o robusta, fundada a partir de hembras de granjas de la península ibérica con al menos 25 partos y una media de 7.5 nacidos vivos (Sánchez *et al.*, 2008). Tras la fundación, la línea se ha seleccionado por el tamaño de camada al destete. Actualmente se encuentra en la generación 18 estando la línea cerrada desde la fundación.

3.2 TOMA DE MUESTRAS.

La toma de muestras se produjo siempre en las 24 horas posteriores al parto, a primera hora de la mañana se restringía el acceso al comedero a las madres y entre las 8 y las 9 de la mañana se procedió a la extracción de sangre. Szeto et al. (2004) señalan que los conejos mantenidos en un laboratorio con el ambiente controlado secretan cortisol siguiendo un ritmo circadiano que alcanza su pico por la tarde y recupera el valor más bajo a las 6:00 de la mañana. Al realizarse toda la toma de muestras el mismo día de la semana y a la misma hora evitamos este efecto.

La extracción de sangre se realizó en la arteria auricular. La sangre se recolectó en tubos K-EDTA de 2.5mm, se recogieron 3 tubos por coneja (figura 3.3) de los cuales 1 de ellos se apartó para realizar un hemograma y los otros 2 fueron centrifugados a 3500 rpm durante 10 minutos y a 4°C de temperatura (figura 3.4). Una vez centrifugado se recogió el plasma y se pipetearon 200 µL en un total de 9 eppendorfs (figura 3.5) que fueron guardados en un congelador a -80°C hasta que se realizó su posterior análisis. En la figura 3.2 se puede ver un esquema del procedimiento seguido para la toma de muestras.

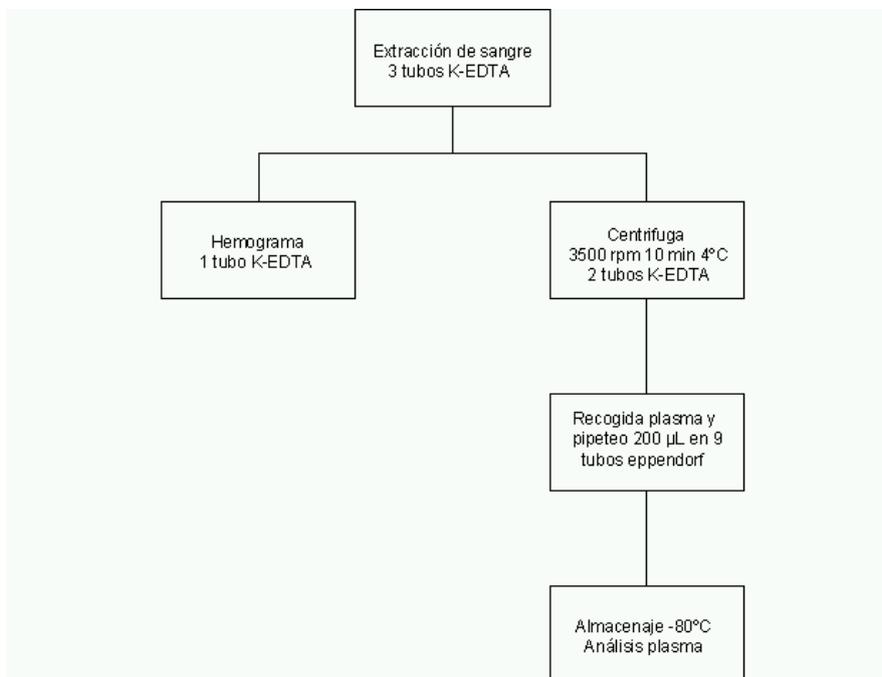


Figura 3.2. Resumen pasos toma de muestras.

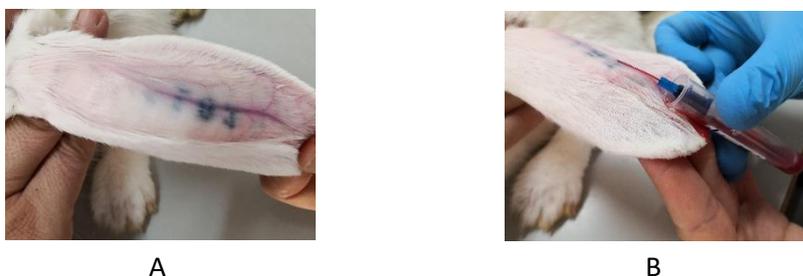


Figura 3.3. A: Arteria auricular; B: Extracción de sangre.



Figura 3.4. Detalle de la centrifuga.

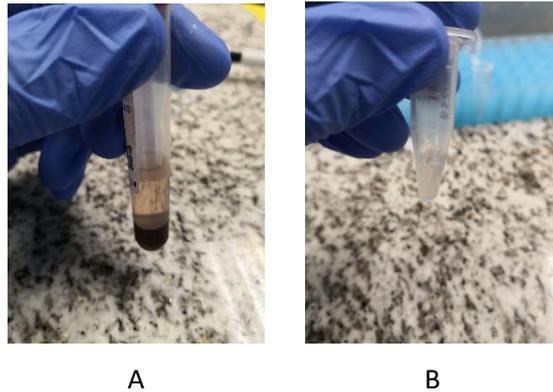


Figura 3.5. A: Plasma en tubo K-EDTA; B: Plasma en eppendorf.

3.3 MARCADORES DE RESILIENCIA ESTUDIADOS.

Interleuquina 1- β (IL-1 β): La concentración de IL-1 β posterior al parto se cuantificó mediante el uso de un Elisa Kit para conejos (CUSABIO. Número de catálogo CSB E06900Rb).

Interleuquina 6 (IL-6): La concentración de IL-6 posterior al parto se cuantificó mediante el uso de un Elisa Kit para conejos (CUSABIO. Número de catálogo CSB-E06903Rb).

Factor necrosis tumoral alfa (TNF- α): La concentración de TNF- α posterior al parto se cuantificó mediante el uso de un Elisa Kit para conejos (ELABSCIENCE. Número de catálogo E-EL-RB0011).

Cortisol: La concentración de cortisol posterior al parto se cuantificó mediante el uso de un Elisa Kit para conejos (CUSABIO. Número de catálogo CSB E06956Rb).

El número de hembras por línea y orden de parto que se utilizó para la medición de estos marcadores de resiliencia se muestra en las tablas 3.1 y 3.2.

Tabla 3.1. Número de hembras usadas de cada línea para los marcadores de resiliencia estudiados.

Línea	IL-1 β	IL-6	TNF- α	Cortisol
A	22	17	23	23
B	42	42	44	44
Total	64	59	67	67

IL-1 β : Interleuquina 1- β ; IL-6: Interleuquina 6; TNF- α : Factor necrosis tumoral α .

Tabla 3.2. Número de hembras de primer parto y múltiparas de la línea B usadas para los marcadores de resiliencia estudiados.

Línea B	IL-1 β	IL-6	TNF- α	Cortisol
Primer parto	33	33	35	35
Múltiples partos	9	9	9	9
Total	42	42	44	44

IL-1 β : Interleuquina 1- β ; IL-6: Interleuquina 6; TNF- α : Factor necrosis tumoral α .

Para calcular las concentraciones de los marcadores a partir de las lecturas ópticas de los test Elisa se hizo uso de la web arigobio (<https://www.arigobio.com/elisa-analysis>). Esa web tiene el software para realizar una regresión logística de cuatro parámetros (4PL) que es lo recomendado cuando se está analizando una curva sigmoidea. Este método es el más habitual para obtener las concentraciones a partir de las lecturas ópticas de los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA). En la figura 3.6 se puede observar un ejemplo de esta curva de regresión para el TNF- α (uno de los marcadores estudiados).

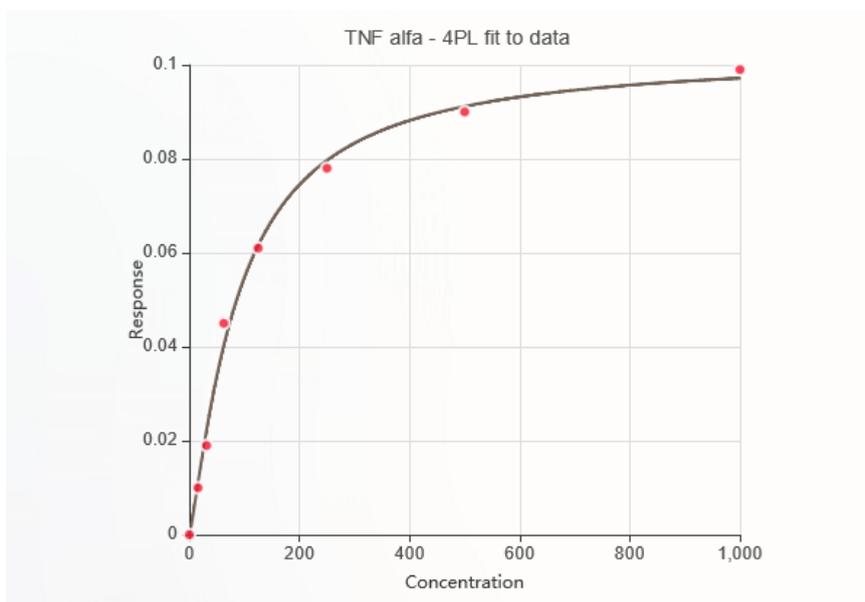


Figura 3.6. Ejemplo curva de regresión logística de cuatro parámetros (4PL) para TNF- α

3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para realizar el análisis estadístico se ha empleado el programa Statgraphics.

Utilizando este programa se realizaron gráficos de cajas con bigotes y los análisis descriptivos para los marcadores estudiados calculándose parámetros de dispersión (varianza, desviación típica, coeficiente de variación) y de centralización (media, mediana, moda).

Para estudiar el efecto de la línea y las diferencias entre hembras primíparas y múltiparas de la línea B se realizó un análisis ANOVA simple con tres niveles: línea A hembras primíparas, líneas B hembras primíparas y línea B hembras con más de 18 partos (hembras múltiparas).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Las líneas objeto de este estudio son dos líneas comerciales de conejos creadas en la Universitat Politècnica de València siguiendo distintos criterios como se ha comentado previamente en el apartado de Material y Métodos. La línea A se fundó en base a animales sanos de la raza Neozelandesa Blanca (NZW) mientras que la línea B se fundó a partir de madres con al menos 25 partos y una media de 7.5 nacidos vivos por parto (Sánchez *et al.*, 2008). En base a los criterios de fundación de ambas líneas, se espera que los animales de la línea B sean más resilientes, es decir animales menos sensibles a enfermedades y con mayor capacidad de adaptarse al ambiente que les rodea que la línea A.

En primer lugar, se realizaron gráficos de caja y bigotes para los marcadores estudiados 24 horas después del parto. En la figura 4.1, se puede observar datos anómalos para algunos de los marcadores estudiados. Estos datos se han eliminado antes de hacer los análisis estadísticos debido a que se han considerado como fallos en el proceso de medición, siendo estos: 2 valores de TNF- α de la línea B, 2 valores de IL-6 de la línea B y 2 valores de IL-1 β correspondiendo uno a la línea A y el otro a la línea B.

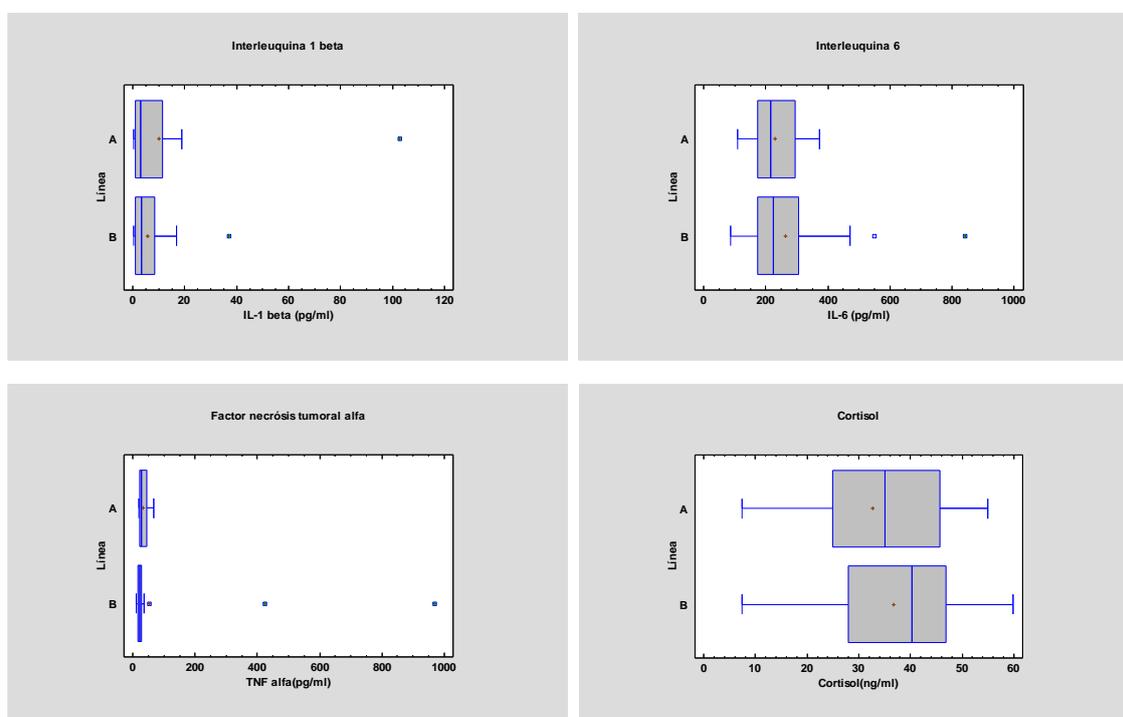


Figura 4.1. Gráficos Caja y Bigotes para las concentraciones de los distintos marcadores de resiliencia estudiados

En la tabla 4.1 se encuentran resumidos los parámetros de centralización y dispersión obtenidos para los marcadores estudiados. Los valores de TNF- α y cortisol están dentro del rango obtenido en otros estudios como el realizado por Beloumi *et al.* (2020) en dos líneas seleccionadas de forma divergente por variabilidad del tamaño de camada. Para IL-6, los valores obtenidos son más altos que los obtenidos por Beloumi *et al.* (2020), una posible explicación podría ser problemas técnicos asociados a la prueba ELISA. No se han encontrado trabajos en conejo que hayan estudiado el marcador IL-1 β , aunque cabe destacar su alta variabilidad, con un coeficiente de variación muy elevado en ambas líneas.

Tabla 4.1. Resumen parámetros descriptivos de las líneas y orden de parto estudiados.

Marcadores	Línea	N.º partos	N.º de datos	Media	Desviación estándar	CV (%)	Mínimo	Máximo
IL-1 β (pg/ml)	A	1	21	5.55	6.35	114.58	0.157	18.82
	B	1	33	5.06	4.92	97.26	0.157	16.75
	B	>18	8	4.35	3.84	88.44	0.531	9.676
IL-6 (pg/ml)	A	1	17	231.1	88.29	38.2	109.78	371.83
	B	1	32	241.13	91.04	37.76	85.99	413.50
	B	>18	8	250.28	119.36	47.69	118.17	472.24
TNF- α (pg/ml)	A	1	23	32.63	12.39	37.98	18.37	66.14
	B	1	34	22.66	8.49	37.45	11.81	53.95
	B	>18	8	21.38	7.54	35.26	13.12	35.30
Cortisol (ng/ml)	A	1	23	32.68	13.97	42.76	7.31	54.94
	B	1	35	36.64	14.87	40.59	7.31	59.87
	B	>18	9	37.11	14.46	38.95	11.39	52.56

IL-1 β : Interleuquina 1- β ; IL-6: Interleuquina 6; TNF- α : Factor necrosis tumoral α ; Línea A: línea de longevidad estándar; Línea B: línea de alta longevidad; CV: coeficiente de variación.

En la tabla 4.2 se pueden observar las medias por mínimos cuadrados y su error estándar de las líneas A y B. En el caso de la línea B, se han estimado las medias en hembras primíparas y múltiparas.

Tabla 4.2. Medias por mínimos cuadrados y su error estándar entre paréntesis de los caracteres estudiados en función de la línea y el número de partos.

Línea	N.º partos	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	Cortisol (ng/ml)
A	1	5.6 a (\pm 1.2)	231.1 a (\pm 22.9)	32.6 a (\pm 2.1)	32.7 a (\pm 3)
B	1	5.1 a (\pm 0.9)	241.1 a (\pm 16.7)	22.7 b (\pm 1.7)	36.6 a (\pm 2.5)
B	> 18	4.4 a (\pm 1.9)	250.3 a (\pm 33.4)	21.4 b (\pm 3.5)	37.1 a (\pm 4.8)

IL-1 β : Interleuquina 1- β ; IL-6: Interleuquina 6; TNF- α : Factor necrosis tumoral α ; Línea A: línea de longevidad estándar; Línea B: línea de alta longevidad; Para cada carácter distinta letra indica diferencias significativas ($p < 0.05$) entre líneas 24 horas después del parto.

Los niveles de cortisol en conejo, así como en humanos y en otras especies domésticas, están relacionados con una respuesta al dolor y al estrés (Comin et al., 2012; Mainau y Manteca, 2011; Díaz Robredo y Robles Sánchez, 2011). En este experimento se ha medido el cortisol 24 horas después del parto, proceso considerado como uno de los eventos más dolorosos y estresantes para la madre como indican Mainau y Manteca (2011) en su estudio sobre el dolor causado por el parto en vacas y cerdas. En conejo, Baldwin y Stabenfeldt (1973) señalan que los niveles de cortisol aumentan bruscamente desde los días 24-26 de gestación alcanzando un pico de 96.7 ng/ml en el día 30 de gestación volviendo a los niveles de gestación temprana (7.1 ng/ml) el día 32 post-inseminación. En nuestro experimento, las líneas no presentan diferencias significativas ni relevantes entre las dos líneas 24 horas después del primer parto (alrededor del día 31 post-monta) por lo que se puede afirmar que ambas líneas responden de forma similar a esta situación de estrés. En el caso de la línea B, tampoco se han encontrado diferencias ni relevantes ni significativas entre las primíparas y las hembras que han tenido más de 18 partos. En otros trabajos como el realizado por Beloumi et al. (2020) donde comparan 2 líneas de conejos 24

horas después del primer parto, la línea seleccionada por tamaño de camada heterogéneo y la línea seleccionada por tamaño de camada homogéneo, tampoco obtuvieron diferencias significativas ni relevantes en la concentración de cortisol de ambas líneas (24.5 ng/ml y 25.1 ng/ml, respectivamente).

Se ha visto que el estrés puede aumentar el riesgo de desarrollar enfermedades o prolongar los efectos de estas (Glaser y Kiecolt-Glaser, 2005). Además, los glucocorticoides como el cortisol pueden tener un efecto proinflamatorio en el sistema inmune (Liu et al., 2017). Como se ha dicho en la introducción del trabajo, la inflamación es una respuesta fisiológica a un factor estresante como puede ser una infección o una lesión tisular (Goldsby et al., 2002) o un desafío productivo o ambiental. Para estudiar esta respuesta inflamatoria 24 horas después del parto, se han medido las concentraciones de 3 citoquinas: IL-1 β , IL-6 y TNF- α en ambas líneas. La línea A obtuvo una mayor concentración de TNF- α mientras que las concentraciones de IL-6 y IL-1 β fueron similares en ambas líneas. Una mayor concentración de TNF- α está relacionada con una mayor respuesta inflamatoria en la línea A (Beloumi et al., 2020) y con una mayor sensibilidad a las enfermedades (Bruunsgaard et al., 1999), por tanto, esta mayor concentración de TNF- α en la línea A indicaría una mayor susceptibilidad a padecer enfermedades. En el trabajo de Beloumi et al. (2020) también se estudió la respuesta inflamatoria y el estrés 24 horas después del parto en dos líneas experimentales seleccionadas de forma divergente por variabilidad para el tamaño de camada. La línea seleccionada para aumentar la variabilidad para el tamaño de camada, línea H, también presentó un mayor valor de TNF- α que la línea seleccionada para disminuir la variabilidad del tamaño de camada, línea L, (50.1 pg/ml y 36.3 pg/ml, respectivamente) y tampoco obtuvieron diferencias ni significativas ni relevantes en la concentración de IL-6 (línea H: 84.8 pg/ml, línea L: 85.2 pg/ml).

Los resultados obtenidos para TNF- α están de acuerdo con los resultados de los trabajos de Bono (2020) y Múgica (2020) donde se analizaba la respuesta inflamatoria frente al desafío de la vacunación contra la enfermedad vírico-hemorrágica en las mismas dos líneas (A y B). Los resultados de estos trabajos muestran que la concentración de proteína C reactiva y del % de granulocitos, antes de la vacunación eran superiores en la línea A y que la línea B presentaba una mejor respuesta inmunitaria. La proteína C reactiva es una proteína de fase aguda producida por el hígado como parte de la respuesta inflamatoria (Goldsby et al., 2002). Por otra parte, los granulocitos son un tipo de glóbulos blancos relacionados con la respuesta inmune (Goldsby et al., 2002). Esta mayor concentración en ambos marcadores antes de la vacunación en la línea A indica un mayor estrés crónico y sensibilidad a enfermedades de esta línea. En otro trabajo previo con ambas líneas realizado por Escrich (2018) se vio que en el periodo estudiado (4 generaciones) la mortalidad de la línea A fue superior a la de la línea B, un 52.2% frente a un 31.6% respectivamente, además, durante el transcurso del estudio se produjo un brote de enteropatía y se vio que la mortalidad al destete y al sacrificio en la línea A era aproximadamente un 20% mayor que en la línea B.

Otros estudios con la línea de alta longevidad muestran que la línea B responde mejor que otra línea materna de la UPV, la línea V, a condiciones de estrés por calor demostrando una mejor respuesta en el número de linfocitos y mejor adaptación a este desafío (Ferrián et al., 2012). Otros resultados que apoyan la mayor robustez de la línea B respecto a otras líneas seleccionadas en la UPV son los de García-Quirós et al. (2014). En este trabajo, la línea B presentó una menor mortalidad por desórdenes digestivos y morbilidad y un mayor número de linfocitos que las otras dos líneas estudiadas, la línea H (seleccionada por tamaño de camada al destete) y la línea R (seleccionada por velocidad de crecimiento con criterios de alta prolificidad).

Cuando se estudia el orden de parto, no se encuentran diferencias ni relevantes ni significativas entre las primíparas de las líneas A y B y las hembras que han tenido más de 18 partos de la línea B. En la granja de selección de la UPV, las hembras que no han muerto o han sido eliminadas por motivos reproductivos o patológicos, se eliminan por fin de generación después del quinto o sexto parto para que entren las hembras y machos de la siguiente generación de selección. En la generación 15 de la línea B, las hembras no se han eliminado por fin de generación y se han dejado produciendo hasta que han sido eliminadas por criterios reproductivos y patológicos. Esas hembras con más de 18 partos son hembras que han pasado por muchos desafíos que han logrado superar sin problemas para su salud y sin afectar a su reproducción. El número de hembras con más de 18 partos es pequeño pero las diferencias con las hembras primíparas de la línea B no han sido relevantes para los marcadores estudiados.

El conjunto de resultados de este trabajo y estudios previos en ambas líneas, apoyan que los animales de la línea B, la línea fundada con criterios de alta longevidad, son animales con una mejor respuesta inflamatoria y más resilientes que los animales de la línea A que es una línea de longevidad estándar.

5. CONCLUSIONES.

La concentración de TNF- α 24 horas después del parto fue superior en la línea A respecto a la línea B. El resto de los marcadores estudiados no presentaron diferencias significativas entre las dos líneas.

En la línea B, no se encontraron diferencias ni relevantes ni significativas para la concentración de los marcadores estudiados 24 horas después del parto entre las hembras de primer parto y las hembras con múltiples partos.

Esta mayor concentración de TNF- α en la línea A sugiere una mayor respuesta inflamatoria y una mayor sensibilidad a las enfermedades de la línea A respecto a la línea B.

6. BIBLIOGRAFÍA

- AGRODIGITAL. (2021). *La CE presentará una propuesta para prohibir todas las jaulas en animales de producción*. Agrodigital.com la web del campo, visto el 16 de Julio de 2021 <https://www.agrodigital.com/2021/07/01/la-ce-estudia-prohibir-todas-las-jaulas-en-2027/>
- AMANDA, M.; ELENA, S.; MAURICIO, A.; RAJKO, R. (2009). *TNF- α in tuberculosis: A cytokine with a split personality*. *Inflammation & Allergy Drug Targets*, 8: 53–62.
- MÍNGUEZ, C. (2011). *Comparación de cuatro líneas maternales de conejo en caracteres de crecimiento*. Tesis de Master. Master Interuniversitario en Mejora Genética Animal y Biotecnología de la Reproducción. 56 pp.
- BALDWIN, D. M.; STABENFELDT, G. H. (1973). *Plasma levels of progesterone, cortisol and corticosterone in the pregnant rabbit*. *Biology of reproduction*, 10: 495-501.
- BASELGA, M.; BLASCO, A.; ESTANY, J. (1984). *Índice de selección de caracteres reproductivos con información variable*. 3rd World Rabbit Congress, 1: 62-65. Roma: Italia.
- BASELGA, M.; BLASCO, A.; SANTACREU, M. A. (2014). *Mejora genética del conejo de carne. La experiencia española*. Tecnología de producción de conejos para carne. INIA: 1-14. Montevideo: Uruguay.
- BAUMEISTER, D.; AKHTAR, R.; CIUFOLINI, S.; PARIANTE, C. M.; MONDELLI, V. (2016). *Childhood trauma and adulthood inflammation: a meta-analysis of peripheral C-reactive protein, interleukin-6 and tumour necrosis factor- α* . *Molecular Psychiatry* 21: 642-649.
- BELOUMI, D.; BLASCO, A.; MUELAS, R.; SANTACREU, M. A.; GARCÍA, M. D.; ARGENTE, M.J. (2020). *Inflammatory Correlated Response in Two Lines of Rabbit Selected Divergently for Litter Size Environmental Variability*. *Animals*, 10: 1540.
- BERGHOF, T. V.; BOVENHUIS, H.; MULDER, H. A. (2019). *Body Weight Deviations as Indicator for Resilience in Layer Chickens*. *Frontiers in Genetics*.
- BERGHOF, T. V.; POPPE, M.; MULDER, H. A. (2019). *Oportunities to improve Resilience in animal breeding programs*. *Frontiers in Genetics*.
- BLASCO, A. (2002). *La mejora genética del conejo en España en los últimos 25 años*. XXVII Simposium de cunicultura: 21-24. Reus: España.
- BLASCO, A.; BASELGA, M.; ESTANY, J. (1984). *Mejora genética del conejo*. IX Symposium de cunicultura: 43-52.
- BONO, P. (2020). *Estudio de la resiliencia en dos líneas comerciales de conejos*. Trabajo final de grado en Ingeniería Agroalimentaria y del Medio Rural. Universitat politècnica de València. 20 pp.
- BRUUNSGAARD, H.; ANDERSEN-RANBERG, K.; JEUNE, B.; PEDERSEN, A. N.; SKINHØJ, P.; PEDERSEN, B. K. (1999). *A high plasma concentration of TNF- α is associated with dementia in centenarians*. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, 54: 357–364.
- COLDITZ, I. G.; HINE, B. C. (2016). *Resilience in farm animals: biology, management, breeding and implications for animal welfare*. *Animal Production Science*, 56: 1961-1983.

- COMIN, A.; ZUFFERLI, V.; PERIC, T.; CANAVESE, F.; BARBETTA, D.; PRANDI, A. (2012). *Hair cortisol levels determined at different body sites in the new zealand white rabbit*. World Rabbit Sci., 20: 149-154.
- DEL GIUDICE, M.; GANGESTAD, S. W. (2018). *Rethinking IL-6 and CRP: Why they are more than inflammatory biomarkers, and why it matters*. Brain, Behavior, and Immunity, 70: 61-75.
- DÍAZ ROBREDO, L. A.; ROBLES SÁNCHEZ, J. I. (2011). *Estabilidad emocional y cortisol como factores diferenciadores de la fibromialgia*. Sanidad Militar, 67, nº1. Madrid: España.
- ECKERSALL, P. D.; SAINI, P. K.; MCCOMB, C. (1996). *The acute phase response of acid soluble glycoprotein, alpha(1)-acid glycoprotein, ceruloplasmin, haptoglobin and C-reactive protein, in the pig*. Vet. Immunol. Immunopathol, 51: 377-385.
- ESCRICH, N. O. (2018). *Sensibilidad a las condiciones sanitarias de tres líneas de conejos*. Trabajo de fin de master en Producción Animal. Universitat Politècnica de València. 41 pp.
- ESTANY, J.; BASELGA, M.; BLASCO, A.; CAMACHO, J. (1989). *Mixed model methodology for the estimation of genetic response to selection in litter size of rabbits*. Livestock Production Science, 21: 67-75.
- FAOSTAT (2019). *Cultivos y producción de ganadería*. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura, visto el 14 de Mayo de 2021 <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL/visualize>
- FERNÁNDEZ, E. N. (2016). *Estimación de efectos genéticos aditivos y no aditivos en líneas maternales de conejos*. Tesis Doctoral. Universitat Politècnica de València. 110 pp.
- FERRIAN, S.; GUERRERO, I.; BLAS, E.; GARCÍA-DIEGO, F. J.; VIANA, D.; PASCUAL, J. J.; CORPA, J.M. (2012). *How selection for reproduction or foundation for longevity could have affected blood lymphocyte populations of rabbit does under conventional and heat stress conditions*. Veterinary Immunology and Immunopathology, 150: 53-60.
- GALLART, M. T. (2018). *Interleuquinas y su papel en las respuestas inmunes*. Servicio de Inmunología. Hospital Clínic i Provincial. Barcelona.
- GARCÍA-QUIRÓS, A.; ARNAU-BONACHERA, A.; PENADÉS, M.; CERVERA, C.; MARTÍNEZ-PAREDES, E.; RÓDENAS, L.; SELVA, L.; VIANA, D.; CORPA, J.M.; PASCUAL, J. J. (2014). *A robust rabbit line increases leucocyte counts at weaning and reduces mortality by digestive disorder during fattening*. Veterinary Immunology and Immunopathology, 161: 123–131.
- GLASER, R.; KIECOLT-GLASER, J. K. (2005). *Stress-induced immune dysfunction: implications for health*. Nature Reviews Immunology 5: 243–251.
- GOLDSBY, R. A.; KINDT, T. J.; OSBORNE, B. A.; KUBY, J. (2002). *Immunology*. Editorial W.H. Freeman. 555 pp.
- GÓMEZ, E. A.; SANTACREU, M. A. (1996). *Mejora genética aplicada en el conejo de carne*. ITEA, 92A: 142-154.
- LIU, Y.-Z.; WANG, Y.-X.; JIANG, C.-L. (2017). *Inflammation: The Common Pathway of Stress-Related Diseases*. Frontiers in Human Nueroscience, 11: 316.
- MAINAU, E.; MANTECA, X. (2011). *Pain and discomfort caused by parturition in cows and sows*. Applied Animal Behaviour Science, 135: 241-251.

MAPAMA. (2021). *Sector cunícola*. Ministerio de agricultura pesca y alimentación, Gobierno de España, visto el 14 de Mayo de 2021 <https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/sectores-ganaderos/cunicola/default.aspx>

MEDLINEPLUS. (2020). *Prueba de cortisol*. MedlinePlus información de salud para usted, visto el 22 de Junio de 2021 <https://medlineplus.gov/spanish/pruebas-de-laboratorio/prueba-de-cortisol/>

MILLER, E. (2021). *The Brilliance of Resilience*. Hypor, visto el 19 de Junio de 2021 <https://www.hypor.com/en/news/the-brilliance-of-resilience/>

MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. (2021). *El sector cunícola en cifras. Principales indicadores económicos 2020*. Subdirección General de Producciones Ganaderas y Cinegéticas, Dirección General de Producciones y Mercados Agrarios, 65pp. Madrid: España.

MISISTEMAINMUNE. (2016). *Interleuquina 1 beta: ¿Cuál es su función en la inmunidad?*. MiSistemaInmune, visto el 22 de Junio de 2021 <https://www.misistemainmune.es/inmunologia/componentes/interleuquina-1-beta-cual-es-su-funcion-en-la-inmunidad>

MISISTEMAINMUNE. (2016). *La interleuquina 6. ¿Cuál es su papel?*. MiSistemaInmune, visto el 22 de Junio de 2021 <https://www.misistemainmune.es/inmunologia/componentes/la-interleuquina-6-cual-es-su-papel>

MISISTEMAINMUNE. (2016). *Factor de necrosis tumoral alfa, necesidad de equilibrio*. MiSistemaInmune, visto el 22 de Junio de 2021 <https://www.misistemainmune.es/inmunologia/componentes/factor-de-necrosis-tumoral-alfa-necesidad-de-equilibrio>

MÚGICA, V. (2020). *Estudio de la respuesta inmune en dos líneas comerciales de conejos*. Trabajo final de grado en Ingeniería Agroalimentaria y del Medio Rural. Universitat politècnica de València. 32 pp.

MULDER, H. (2019). *Improving resilience in livestock*. Wageningen University & Research.

MULDER, H. A.; RASHIDI, H. (2017). *Selection on resilience improves disease resistance and tolerance to infections*. Journal of Animal Science, 95: 3346-3358.

RAFEL, O.; RAMON, J. (2016). *Mejora de la rentabilidad mediante el uso correcto de la genética*. Cunicultura.info, visto el 14 de Mayo de 2021 <https://cunicultura.info/mejora-la-rentabilidad-mediante-uso-correcto-la-genetica-2/>

RAUW, W.M.; KANIS, E.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E.N.; GROMMERS, F.J. (1998). *Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review*. Livestock Production Science, 56: 15-33.

RIVERA, L. E.; CABRERA, S. A.; RAMOS, A. P. (2007). *Participación de la interleucina 1 β (IL-1 β) en periodontitis*. Revista Odontológica Mexicana, 11: 185-200.

SÁNCHEZ, J. P.; THEILGAARD, P.; MÍNGUEZ, C.; BASELGA, M. (2008). *Constitution and evaluation of a long-lived productive rabbit line*. Journal of Animal Science, 86: 515-525.

SZETO, A.; GONZALES, J. A.; SPITZER, S. B.; LEVINE, J. E.; ZAIAS, J.; SAAB, P. G.; SCHNEIDERMAN, N.; MCCABE, P. M. (2004). *Circulating levels of glucocorticoid hormones in WHHL and NZW rabbits: circadian cycle and response to repeated social encounter*. *Psychoneuroendocrinology*, 29: 861-866.