

## Aspectos prácticos de las pruebas de laboratorio utilizadas en reproducción equina.

El examen clínico es, y debe ser, la herramienta más importante en los exámenes de reproducción que se realizan de forma rutinaria. Cabe destacar dentro de este examen clínico, el examen rectal del tracto genital de las yeguas junto con el estudio ecográfico como las pruebas más relevantes. Un examen clínico exhaustivo es aplicable también a los sementales, acompañado de un análisis del eyaculado.

En determinados casos puede ser necesaria la determinación de diversas hormonas. La evaluación de estas hormonas será de ayuda, tanto en machos como hembras, y deberá siempre interpretarse de forma individual junto a los hallazgos clínicos y la historia del paciente.

### HORMONAS ESTEROIDEAS

#### **Estradiol:**

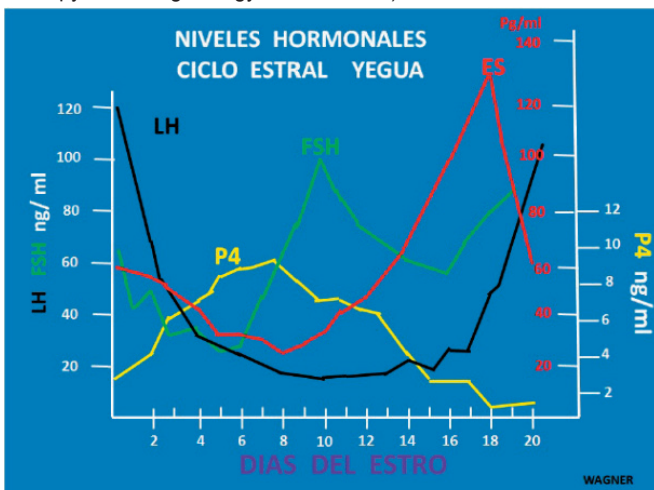
Se produce en el folículo ovárico durante el estro. Durante la preñez, el sistema materno-fetal se encarga de sintetizar grandes cantidades de estrógenos (aumentado hasta el día 210 para después disminuir progresivamente hasta el día del parto).

#### **Progesterona (P4):**

Producida en el cuerpo lúteo (C.L) por las células luteínicas. No es posible diferenciar entre la progesterona de un ciclo normal y la de preñez.

En la siguiente figura 1 podemos ver las variaciones que se producen de estas dos hormonas, junto a la hormona luteinizante (LH) y a la hormona estimulante del folículo (FSH), durante el ciclo estral normal de la yegua:

**Figura 1.** Variación en los niveles hormonales durante el ciclo estral de la yegua (Fuente: Wagner W. Principles of hormone therapy. Current Therapy in Theriogenology, Morrow, 1988)



Abreviaturas: ES estrógenos; FSH hormona estimulante del folículo; LH hormona luteinizante; P4 progesterona

#### **Testosterona:**

Sintetizada por las células de Leydig en los testículos, y en menor grado, en la corteza suprarrenal. Los valores varían durante el día, siendo bajos en la madrugada y más elevados por la tarde. Las yeguas también producen testosterona, aunque en bajas cantidades en los ovarios y en la corteza suprarrenal.

Nota: la interpretación de los niveles de hormonas esteroideas sexuales/gonadales debe realizarse en el contexto de un examen clínico. En algunos casos pueden ser necesarias pruebas de seguimiento para valorar variaciones en las concentraciones hormonales.

## HEMBRAS

### DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN

Debido a que el diagnóstico de preñez por palpación rectal no siempre es posible, las pruebas hormonales específicas para el diagnóstico de gestación en yeguas pueden ser de gran utilidad.

#### **Gonadotropina sética de yegua gestante (PMSG) / gonadotropina coriónica equina (eCG):**

Se sintetiza en las copas endometriales entre los días 35 y 120 de la preñez (en ocasiones continúa hasta más tarde). Los valores más altos se encuentran entre los días 60 y 75. Antes del día 35 o después del 120, los valores pueden ser inconcluyentes, siendo necesario tomar muestras consecutivas. Por ello, se recomienda la toma de muestras entre los días 45 y 100 post ovulación. También es importante recordar que las copas endometriales pueden continuar produciendo PMSG durante varias semanas después de la reabsorción fetal, lo que puede resultar en un falso positivo, aunque no haya fetos vivos.

En las yeguas con una determinación de PMSG positiva, es aconsejable confirmar la gestación mediante la prueba de sulfato de estrona unas semanas más tarde (después del día 110).

#### **Sulfato de estrona**

Es un indicador de que existe feto vivo. Se produce por la unidad materno-fetal y es detectable en cantidades cada vez mayores a partir del día 40 de la preñez. Sin embargo, no es posible distinguirlo claramente de la secreción de estrógeno propios del estro en estas etapas iniciales. Se recomienda la determinación del

sulfato de estrona a partir del día 110 post ovulación, y hasta una semana antes del parto, ya que en esta etapa se darán las concentraciones más altas.

La determinación de sulfato de estrona también se puede realizar a partir de la orina.

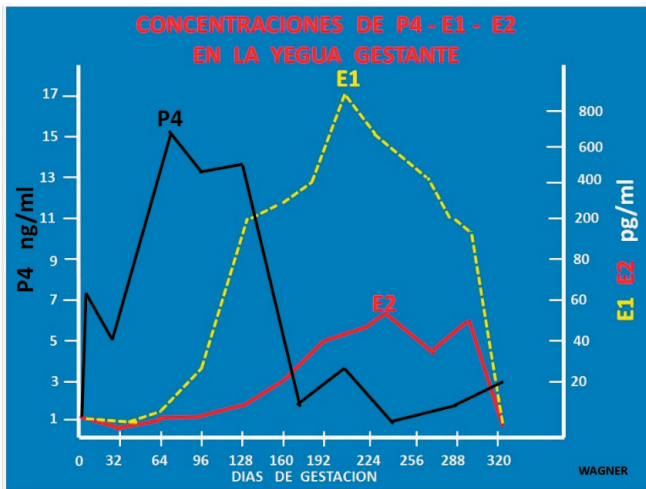
Precaución: no todas las yeguas tienen un patrón típico de secreción. Cuando se obtienen resultados dudosos, se deben repetir las pruebas de 3 a 4 semanas después. Un resultado negativo de sulfato de estrona en una yegua que se sabe que tiene más de 120 días de preñez puede indicar daño del feto / placenta. En este caso, será necesario realizar un examen rectal o ecográfico.

### Progesterona:

La progesterona no es una hormona específica de preñez ya que las pruebas de laboratorio no pueden diferenciar entre cuerpos lúteos específicos de ciclo y de preñez. Los valores de progesterona suelen ser más altos en las yeguas preñadas, pero en casos de ovulación doble o múltiple también pueden obtenerse valores elevados. En etapas más avanzadas de preñez (> 50 días), la concentración aumenta nuevamente, pero para entonces se recomienda el uso de otras hormonas más específicas (mencionadas previamente).

En la figura 2 se pueden observar las variaciones hormonales que se producen durante la gestación.

**Figura 2.** Variación en los niveles hormonales durante la gestación de la yegua (Fuente: Wagner W. Principles of hormone therapy. Current Therapy in Theriogenology, Morrow, 1988)



Abreviaturas: E1 estrón; E2 estradiol; P4 progesterona

### DIAGNÓSTICO DE TUMORES OVÁRICOS

En las yeguas con comportamientos y/o ciclos anormales con hallazgos notables en el examen rectal (diferente tamaño de los ovarios entre sí), o ecográfico (imagen en panel de abeja) de los ovarios, se ha de sospechar de un tumor ovárico. Los tumores ováricos son, de hecho, una de las neoplasias más comunes en los caballos. Los tumores ováricos más comunes son los tumores de células de la granulosa (GCT). Este tumor puede producir estradiol y testosterona, aunque no siempre lo hace, ya que tan solo en el 50% de las yeguas afectadas muestran aumentos de los niveles de testosterona y estradiol. Por otro lado, la progesterona es casi siempre baja en yeguas con GCT, ya que su ciclo se encuentra alterado y, sin ovulación, no se forman cuerpos lúteos. Por tanto, éstas y otras hormonas se

pueden utilizar como ayuda al diagnóstico de tumores ováricos. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que las yeguas con tumores pueden tener niveles hormonales normales y que los niveles hormonales aumentados pueden encontrarse en yeguas con otras anomalías del ciclo o en yeguas sanas preñadas.

### Hormona antimulleriana (AMH):

Es una glucoproteína que desempeña un papel importante en la diferenciación sexual durante el desarrollo embrionario. En las hembras, la AMH es secretada por las células de la granulosa de los folículos preantrales y antrales pequeños. Dado que los tumores de células de la granulosa son los tumores más comúnmente diagnosticados del tracto genital en las yeguas, esta hormona se puede usar para su diagnóstico. Las yeguas con GCT tienen concentraciones de AMH mucho más elevadas que las normales. Además, cabe destacar su gran sensibilidad (95%) en el diagnóstico de GCT. Los resultados dudosos son raros (en las primeras etapas de la neoplasia). En estos casos, la determinación de hormonas esteroideas gonadales puede ayudar al acercamiento de un diagnóstico fiable. Sin embargo, generalmente se recomienda repetir las pruebas de AMH pasados 1 o 2 meses.

En medicina humana, la detección de AMH también proporciona información sobre la reserva folicular antral de una mujer. Este uso aún no es aplicable en caballos, ya que las yeguas se deberían monitorizar durante años para correlacionar la disminución de los niveles de AMH y fertilidad.

### Inhibina:

También se produce en las células de la granulosa de los ovarios. Por lo tanto, el nivel de inhibina B en suero aumenta significativamente en las yeguas con GCT y puede usarse para fines de diagnóstico. La inhibina además conduce a la supresión y pérdida de la función del ovario contralateral. Sin embargo, dado que la sensibilidad de la AMH es mayor para el diagnóstico de GCT, se recomienda el uso de esta última.

## MACHOS

### DIAGNÓSTICO DE CRIPTORQUIA.

Incluye la detección de caballos macho criptóquidos y castrados de forma incompleta. Las determinaciones individuales de testosterona a menudo no son concluyentes debido a las pronunciadas fluctuaciones circadianas y estacionales.

### Prueba de estimulación de gonadotropina coriónica humana (hCG) / "Prueba de Cox":

Se basa en el principio de que la hCG tiene efectos sobre la LH.

#### Procedimiento:

- Toma de muestra de sangre (en la mañana si es posible) = testosterona basal
- Inmediatamente después: inyección i.v. de 5000-10000 I.U. hCG / caballo
- Pasados 60 min.: extracción de sangre = valor de estimulación

Interpretación: los caballos completamente castrados tienen niveles mínimos de testosterona y una

estimulación baja o nula. Un claro aumento de la testosterona, por otro lado, demuestra la presencia de tejido productor de testosterona. Al mismo tiempo, es importante observar los valores absolutos:

- Las concentraciones de testosterona entre 0,05-0,1 ng / ml después de la estimulación se consideran dudosos y requieren la realización de pruebas adicionales como, por ejemplo, la AMH.
- Los valores >0,1ng/ml son indicativos de la presencia de tejido testicular.

Limitación: en caballos menores a 18 meses de edad, los testículos pueden tener una reacción limitada a la inyección de hCG.

Hormona antimulleriana:

Esta hormona es expresada por las células de Sertoli. Es alta hasta la pubertad y luego disminuye con el aumento de la producción de testosterona. Sin embargo, los sementales y criptóquidos pueden diferenciarse claramente de los animales castrados debido a una mayor concentración de esta hormona en comparación con los machos enteros. La medición de AMH es, por lo tanto, un biomarcador útil para la presencia de tejido testicular.

Los resultados dudosos no son frecuentes, aunque en sementales muy viejos, la concentración de AMH puede disminuir notablemente.

En animales machos, la concentración de AMH también se puede utilizar como marcador para la detección de tumores de células de Sertoli (aunque suelen ser raros).

### **Sulfato de estrona**

También se puede utilizar para el diagnóstico de criptorquidia. Sin embargo, la prueba no es informativa en caballos menores de 3 años de edad o en burros.

Debido a esta limitación, la prueba de sulfato de estrona ha sido reemplazada cada vez más por la prueba de la AMH en el diagnóstico de criptorquidia, y tan solo se utiliza como prueba complementaria.

### **Prueba de estimulación de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH):**

El principio es el mismo que para la prueba de estimulación de hCG, pero se podrá evaluar al mismo tiempo el correcto funcionamiento del eje hipotálamo-hipofisario, el cual no se encuentra relacionado con la criptorquidia, pero sí con casos de sub/infertilidad.

Procedimiento:

- Toma de muestra de sangre (en la mañana si es posible) = testosterona basal
- Inmediatamente después: inyección i.v. de 0.04 mg GnRH / caballo
- Pasados 60 min.: extracción de sangre = valor de estimulación

Interpretación:

Dependiendo del problema. Para la criptorquidia se debe interpretar igual que la prueba de estimulación de hCG. Para evaluar la glándula pituitaria, se deberá medir la LH / FSH.