

Veterinaria Cuyana

V1n

Publicación de la Facultad de Veterinaria. Universidad Católica de Cuyo (San Luis) Argentina

ISSN 1850-356X



VC

Veterinaria Cuyana



Vol. 1 n° 2, 2006
Publicación de la
Carrera de Ciencias Veterinarias
Universidad Católica de Cuyo (San Luis) Argentina

ISSN 1850-0900
Registro Propiedad Intelectual en trámite

Dirección postal
Veterinaria Cuyana
Felipe Velázquez 471 (D5702GZI)
San Luis, Argentina

Director

Dr. Pablo Eduardo Martino

Editor Responsable

Dr. Nestor Oscar Stanchi

Secretario de Redacción

Méd.Vet. Daniel O. Arias

Comité Editorial **(Carrera de Veterinaria)**

Daniel O. Arias
Guillermo A. Bavera
Gustavo Giboin
Enrique Pennimpe
Cristina Gobello
Alejandra Stornelli
Juan Carlos Reyna
Carlos Rossanigo
Ricardo Sager
Javier Vera Frassinelli

Evaluadores de trabajos de Veterinaria Cuyana

L Basso (Argentina), R Cacchione (Argentina),
F Capano (Uruguay), C Carfagnini (Argentina), A Con-
gliaro (Argentina), JA Coppo (Argentina), J de Filippo
(Argentina), R de Torres (Argentina), A Fosatti (Argen-
tina), LM Friche Passos (Brasil), E Gentilini (Argen-
tina), E Gimeno (Argentina), G. González (Argentina),
JM Gutiérrez (Costa Rica), C Gómez (Argentina), N
Leardini (Argentina), C Lerena (Argentina), M Monina
(Argentina), E Moras (Argentina), A Parma (Argentina),
E. Pennimpe (Argentina), L Samartino (Argentina), I
Sommerfelt (Argentina), P Soto (Argentina) H Tersolo
(Argentina), J Zorzopulos (Argentina).

La revista Veterinaria Cuyana es una publicación semestral de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Católica de Cuyo, Argentina.

Está destinada a la difusión de trabajos científicos, de revisión e información institucional de esta y de otras instituciones.

The Journal Veterinaria Cuyana is a biannual publication of the School of Veterinary Sciences of the Catholic University of Cuyo, San Luis, Argentina.

It is destined to the diffusion of scientific reports in the field of the Veterinary Sciences, generated in this and in other institutions.

© Las opiniones expresadas por los autores que contribuyen a esta revista no reflejan necesariamente las opiniones de este medio, ni de las entidades que la auspician o de las instituciones a que pertenecen los autores.

Queda prohibida la reproducción total o parcial por cualquier metodología del material impreso en esta revista sin el consentimiento expreso del Editor. Está autorizada la reproducción con fines académicos o docentes mencionando la fuente.

Los nombres comerciales están destinados para la identificación y no implica el respaldo directo o indirecto de la Nación Argentina ni de los países respectivos de donde provengan los trabajos; tampoco se garantizan ni respaldan los productos promocionados en los avisos de publicidad.

Todos los trabajos publicados en Veterinaria Cuyana son sometidos a revisores externos.

El Editor se reserva el derecho de editar los artículos para clarificarlos y modificarles el formato para adecuarlos al estilo de Veterinaria Cuyana.

All articles published in Veterinaria Cuyana are submitted to external scientific reviewers.

The Editor reserves the right to edit articles for clarity and to modify the format to fit the publication style of Veterinaria Cuyana

Revisión de estilo
Prof. Nora B. Vázquez

Diseño y diagramación
Lic. Sandra M. Cadelago

Indizada en: Red de Información C&T para América Latina y el Caribe (INFOCYT)
<http://www.redhucyt.oas.org/infocyt/>



Impreso en papel libre de ácido
Printed in acid-free paper

Impreso en Argentina
Printed in Argentina

Se solicita canje - We ask for exchange - On demande l'échange - Si prega lo scambio
Pedese permuta - Man bitter um austauch - Oni petas intersangon

Editorial

Continuamos en este segundo número de Veterinaria Cuyana con el apoyo a las Ciencias Veterinarias, en el marco de la **Carrera de Veterinaria** de la **Facultad de Veterinaria** de la **Universidad Católica de Cuyo**, con sede en San Luis, Argentina. La Universidad establece nuevos desafíos año a año, en el 2007 comenzará la carrera de **Técnico en producción y administración de agronegocios**.

El objetivo de la **tecnicatura** es que el egresado aporte con su conocimiento al crecimiento y desarrollo de la cadena de valor agropecuaria, organizaciones agrarias y empresas afines con el más alto nivel de profesionalidad, que incida positivamente en la gestión de las mismas, operando en la complejidad del mundo moderno, que cubra las necesidades técnicas del sector agropecuario relacionadas especialmente con la producción agrícola ganadera sustentable **asistiendo** al Médico Veterinario y/o Ing. Agrónomo en la labor profesional. De esta manera la Universidad a través de la carrera, participa en la comunidad general y directamente en el sector agroindustrial agregando valor, facilitando la resolución de problemas e incentivando la investigación en la producción agropecuaria. Así el aprendizaje en la misma conectará los más modernos conceptos de producción y administración agraria con la aplicación práctica y con la especificidad provincial de manera prioritaria, sin excluir la regional y nacional.

Esperamos seguir contando con sugerencias y con su apoyo para lograr que **Veterinaria Cuyana** sea una revista que represente a los veterinarios de la región.

Prof. Dr. Nestor Oscar Stanchi
Editor

Dr. Javier Vera Frassinelli
Delegado Rectoral

Índice

Artículos de Investigación Research articles

ANEMIA ARREGENERATIVA EN FELINOS Y CANINOS: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA II PARTE

NON REGENERATIVE ANEMIA IN DOGS AND CATS. A BIBLIOGRAPHIC REVISION. PART II. Pintos ME, Stornelli MC y col.

5-11

Revisiones Review

USO VETERINARIO DE LA DESMOPRESINA COMO ADYUVANTE PERIOPERATORIO DURANTE LA EXTIRPACIÓN DE TUMORES SÓLIDOS

VETERINARY USE OF DESMOPRESSIN AS A PERIOPERATIVE ADJUVANT DURING EXTIRPATION OF SOLID TUMORS. Hermo G, y col.

12-25

PARTICULARIDADES DEL CICLO ESTRAL CANINO. ASPECTOS CLÍNICOS Y ENDOCRINOLÓGICOS

ESTROUS CYCLE FEATURES IN THE BITCH. CLINICAL AND ENDOCRINOLOGICAL ASPECTS. Stornelli MC, y col.

26-35

TENOSINOVITIS NODULAR LOCALIZADA (TNL). PRESENTACIÓN DE UN CASO

LOCALIZED NODULAR TENOSYNOVITIS. A CASE DESCRIPTION. Brusa MC, y col.

36-40

Comunicaciones breves Short communications

CARACTERIZACIÓN DE TERNEROS CON MENORES GANANCIAS DE PESO POR HIPOCUPROSIS

CHARACTERIZATION OF LOW WEIGHT GAIN IN CALVES WITH HYPOCUPROSIS. Rosa DE y col.

41-45

ANEMIA ARREGENERATIVA EN FELINOS Y CANINOS: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA II PARTE

NON REGENERATIVE ANEMIA IN DOGS AND CATS. A BIBLIOGRAPHIC REVISION. PART II.

**Pintos ME, Stornelli MC, Scodellaro CF,
Stornelli MA, Arauz MS.**

Servicio Central de Laboratorio.
Facultad de Ciencias Veterinarias.
Universidad Nacional de La Plata

Resumen

La anemia es el descenso absoluto del hematocrito, la concentración de hemoglobina y el recuento de glóbulos rojos. El diagnóstico se basa en los datos obtenidos de la historia clínica, revisión física y hallazgos de laboratorio. Los signos clínicos que sugieren la presencia de anemia están relacionados con la deficiencia en el transporte de oxígeno, el incremento en la eficiencia de la eritropoyesis y la reducción del trabajo cardíaco. La confirmación de los datos de laboratorio son muy necesarios ya que no todas las anemias se presentan con signología clínica evidente. La etiología de la causa de anemia debe ser evaluada ya que esta de por sí no constituye un diagnóstico. La clasificación de anemias de acuerdo a la respuesta de la médula ósea las divide en: 1) Anemias Regenerativas: en donde la médula responde activamente a la producción de eritrocitos. Los hallazgos de laboratorio se caracterizan por presentar policromasia y reticulocitosis. La presencia de regeneración sugiere una causa extramedular que indica una pérdida de sangre (hemorragia) o mecanismos de destrucción eritrocitaria (hemólisis) que tenga una duración de 2 a 3 días para manifestar la respuesta regenerativa en sangre. El examen de médula es raramente necesario en este tipo de anemia. 2) Anemias Arregenerativas: su presencia indica una inadecuada respuesta de la médula por desordenes primarios o secundarios en la misma. La policromasia y la reticulocitosis están ausentes. Generalmente se caracteriza por ser normocítica y normocrómica. En estos casos se necesita un examen de médula ósea y otras pruebas bioquímicas para llegar al diagnóstico.

Abstract

Anemia is an absolute decrease in the hematocrit, hemoglobin concentration and blood cell count. The diagnosis rests on information gained from historical, physical and laboratory findings. Clinical signs suggesting the presence of anemia are relative to decreased oxygen transport capacity and physiologic adjustments made to increase the efficiency of the erythron and reduce the work load on the heart. Laboratory confirmation is necessary because anemias do not always present diagnostical clinical signs. The etiology of all anemias should be identified where possible because the term « anemia » per se does not constitute a diagnosis. Classification according to bone marrow respond: 1) Regenerative anemia: the bone marrow is actively responding to the anemia by increasing its production of erythrocytes. The laboratory findings that denote regeneration are polychromasia, reticulocytosis. The presence of regeneration suggests and extra marrow cause it implies a blood loss or erythrocytes destruction mechanism that is of sufficient duration (2 to 3 days) for regenerative response to be evident in the blood. Bone marrow examination is rarely necessary to detect regeneration. 2) Its presence indicate an inadequate bone marrow response because of either a primary or secondary bone marrow disorder. Polychromasia and reticulocytosis are absent. Bone marrow examination is indicated and others biochemical determination for diagnosis.

Introducción

La anemia es una afección frecuente en perros y gatos, que posee origen primario o secundario a otro problema de base. Esta afección se caracteriza por el descenso absoluto del número de eritrocitos, concentración de hemoglobina y valor hematocrito por debajo del límite inferior del rango de referencia para la especie. Es así que cursa con la reducción de la capacidad de la sangre para transportar oxígeno a los tejidos en un nivel aceptable para el desarrollo adecuado de la función metabólica. La anemia es una manifestación clínica de un proceso de enfermedad, por lo tanto el éxito en el tratamiento se basa en la identificación del proceso morboso que la originó (5, 14, 15).

La médula ósea, el bazo, el hígado y las linfoglándulas constituyen los órganos hematopoyéticos potenciales, que pueden llevar a cabo la eritropoyesis. En el animal adulto, la eritogénesis se realiza en los espacios medulares, en especial del esqueleto axial y los extremos de los huesos largos. Pero cuando la demanda de eritrocitos aumenta, esta puede realizarse también en otros órganos y se la denomina hematopoyesis extramedular (8,13).

El animal normal puede producir varios millones de eritrocitos/ Kg/ día. Una población de células madres pluripotenciales mantiene la producción de megacariocitos, granulocitos, monocitos y eritrocitos. Estas células se caracterizan por la auto renovación, proliferación y diferenciación. Se reconocen al menos dos subgrupos de células progenitoras que dan origen a hematíes maduros, denominándose BFU-E (erythroid burst forming units) y CFU-E (erythroid colony forming units).

El lapso de vida de los hematíes caninos varía de 110 a 120 días. El tiempo medio de supervivencia de los eritrocitos del perro con el uso del Cr^{51} es de 21 a 30 días. Los eritrocitos felinos poseen tiempos de supervivencia considerablemente más cortos en comparación con las demás especies domésticas. Este fenómeno podría relacionarse con lesiones oxidativas considerando la sensibilidad de la hemoglobina del gato. El lapso de vida medido incorporando trazadores es de 76 +/- 0,9 días usando diisopropil fluorofosfato-32 (DPF³²) y de 10,7; 6 y 13,7 usando Cr^{51} . Del 0,9 al 1,3% de los glóbulos rojos son eliminados en forma diaria de la circulación de perros y gatos adultos normales. Muchos son removidos por el sistema fagocítico mononuclear y una pequeña parte puede lisarse en la circulación (14, 17).

Los eritrocitos cumplen tres funciones: transporte de oxígeno hacia los tejidos, transporte de dióxido de carbono hacia los pulmones y amortiguación de los protones. En los animales normales la presencia de hemoglobina intraeritrocitaria incrementa la capacidad transportadora de oxígeno de la sangre en más de 50 veces en comparación con en el plasma sin hematíes. El contenido de oxígeno de la sangre depende del contenido de hemoglobina, presión parcial de oxígeno y afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (12, 22).

La anemia es una de las anomalías de laboratorio más importantes y frecuentes, encontradas en medicina vete-

rinaria; constituyendo un estado clínico de importancia que se aborda lógicamente como un proceso secundario (13).

La aproximación diagnóstica se realiza a través de los hallazgos del examen físico y estudios hematológicos y/o bioquímicos arribándose al diagnóstico definitivo mediante la investigación de la causa original. A través de la determinación del índice reticulocitario se puede identificar el tipo de anemia (regenerativo o arregenerativa), obteniéndose valiosos datos sobre la etiopatogenia de la misma. En otras ocasiones se necesita realizar estudios más complejos como por ejemplo extendidos medulares para poder llegar a un diagnóstico (16).

Fisiopatología de la Anemia

Las alteraciones observadas en los cuadros de anemia, se relacionan con la oxigenación disminuida de los tejidos. Cuando ocurre hipoxia, la presión de oxígeno en el sistema microcirculatorio es insuficiente para el desarrollo del metabolismo en células alejadas de los capilares. La hipoxia tisular activa una serie de mecanismos compensadores fisiológicos útiles para mantener los niveles de oxígeno en los tejidos. (6) Cada tetrámero de hemoglobina es capaz de fijar cuatro moléculas de oxígeno cuando es oxigenado a pleno. La fijación inicial de una molécula de oxígeno a un monómero de hemoglobina desoxigenada facilita el ligamiento adicional del gas. Al cambiar la afinidad de la hemoglobina con la oxigenación se genera una curva de disociación sigmoidea, cuando se grafica el porcentaje de saturación de la hemoglobina con el oxígeno contra la presión parcial de oxígeno (PO_2). Uno de los ajustes fisiológicos más rápidos frente a la anemia (hipoxia tisular) es la desviación de la curva de disociación de la oxihemoglobina hacia la derecha. Esta desviación reduce la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, de modo que se libera hacia los tejidos una mayor proporción del oxígeno transportado por la hemoglobina (24).

Dos mecanismos intervienen en la desviación de la curva de disociación de la oxihemoglobina:

1) Primero cuando sobreviene hipoxia tisular, las células hipóxicas producen mayor cantidad de ácido láctico mediante glucólisis anaerobia y como consecuencia disminuye el pH macroambiental. Como la oxihemoglobina es un ácido más fuerte que la hemoglobina, esta acidez favorece la desoxigenación. Esto se conoce como efecto Bohr.

2) En el segundo mecanismo y el más importante, los niveles de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) aumentan en los eritrocitos. El 2,3 DPG producido se fija a la hemoglobina reducida y la estabiliza en su estado de poca afinidad por el oxígeno. Cuando la hemoglobina se mantiene en esta configuración, el oxígeno se libera con mayor facilidad hacia los tejidos (24,6, 12).

Otra respuesta compensadora rápida es la desviación del aporte sanguíneo, desde los tejidos con poca demanda de oxígeno (ej piel), hacia los de gran demanda como por ejemplo el encéfalo. Esto se logra mediante vasoconstricción selectiva. Por otra parte se produce también, el aumento del volumen minuto

cardíaco, aumentando así la oxigenación de los tejidos ya que se incrementa el aporte sanguíneo a los mismos. La respuesta compensadora más apropiada es el aumento en la producción de eritrocitos por parte de la médula ósea. La hipoxia tisular induce la liberación de eritropoyetina, que en la médula ósea ejerce su efecto estimulante sobre la célula primordial de los eritrocitos. Si bien este mecanismo es la respuesta fisiológica más apropiada frente a la anemia es también la más lenta, y la cantidad de eritrocitos tardará en aumentar entre 4 y 6 días (5, 6, 18).

Signos clínicos de Anemia

El signo clínico de anemia, más fácilmente observado en la clínica diaria es la palidez, que se debe primariamente a la disminución de la masa eritrocítica circulante, pero también contribuye a este fenómeno, la disminución del aporte sanguíneo a los tejidos superficiales producida por la vasoconstricción periférica.

Las anemias de instalación rápida (agudas) plantean un riesgo inmediato alto para el paciente y se asocian con signos clínicos más severos. En la anemia aguda los signos clínicos se relacionan con una hipoxia tisular súbita y/o reducción repentina en la masa eritrocítica. Los signos más comúnmente observados comprenden colapso, hiperventilación, shock hipovolémico y evidencias de cese agudo de la función renal.

En la anemia de instalación gradual, los signos clínicos aumentan de intensidad lentamente. Es por esto que el propietario convive con los cambios paulatinos de su animal y el hematocrito puede bajar hasta el 10 % antes que el dueño empiece a sospechar un problema de enfermedad. Muchas veces el signo de presentación es letargo y taquicardia. En ocasiones el animal aparenta ser normal hasta que se lo exige o sufre un estrés, entonces aparece taquipnea y dificultad respiratoria. (1, 18, 24, 30)

Diagnóstico y diferenciación de las causas de Anemia

Una aproximación sistemática a la anemia debe incluir anamnesis detallada, examen físico completo, hemograma, recuento de reticulocitos, determinación de proteínas plasmáticas y examen del frotis sanguíneo. El primer paso es determinar si la anemia es regenerativa o arregenerativa.

La comprensión del funcionamiento normal de la médula ósea y el reconocimiento de una alteración en sus funciones son esenciales para caracterizar la causa de la anemia y poder determinar si la médula ósea responde de manera adecuada.

Una vez que se arribó al diagnóstico de anemia por los signos clínicos y los datos de laboratorio (recuento eritrocitario, hematocrito y dosaje de hemoglobina disminuidos), se debe identificar la causa de origen y clasificar la anemia, de manera de poder instaurar el tratamiento adecuado (21).

Clasificación:

1) La clasificación de mayor aplicación fisiopatológica es aquella que divide a las anemias de acuerdo al funcionamiento de la médula ósea a través del recuento de reticulocitos; entonces se las clasifica en:

- Anemia Regenerativa.
- Anemia No Regenerativa o Arregenerativas

Anemia Regenerativa:

Es aquella en que la médula ósea responde debidamente con una mayor producción de eritrocitos. Este tipo de anemia son las anemias por pérdida de sangre y las anemias hemolíticas.

Las anemias regenerativas son el resultado de una excesiva pérdida de sangre (hemorragias) o destrucción de glóbulos rojos (hemólisis). Se produce un aumento de la eritropoyesis con un incremento en el número de células jóvenes (reticulocitos). Estos aparecen en la circulación a los 2-4 días de producirse la pérdida de sangre o hemólisis, con un pico de producción entre los 4 a 7 días (5).

Anemias Arregenerativas:

Las anemias arregenerativas se caracterizan por una disminución o deficiencia en la producción de glóbulos rojos por la médula ósea por lo tanto el número de reticulocitos circulantes es menor. (19).

2) El estudio de los índices hematimétricos nos permite también caracterizar a las anemias.

El volumen celular medio (VCM) es el valor hematocrito x 10 / número de eritrocitos se expresa en micras cúbicas y nos informa sobre el tamaño del eritrocitos.

Así cuando el VCM está elevado hablamos de macrocitos (anemia macrocítica) lo cual nos indica la presencia de eritrocitos jóvenes en circulación. Esto puede ir acompañado de policromasia y reticulocitosis cuando se trata de una regeneración medular adecuada. La excepción en el gato es la anemia asociada al virus de la leucemia felina (Vilef) donde el VCM está elevado y la anemia no es regenerativa (Geoger, Cotter). La disminución del VCM nos estaría indicando microcitos (anemia microcítica) y la mayoría de las veces es por deficiencia de hierro.

La concentración corpuscular media de (HCM) es el valor de la hemoglobina x 100/ hematocrito. Es el índice eritrocitario más seguro, porque se calcula a partir de los dos valores más fiables del hemograma realizado en forma manual.

Los descensos de la concentración corpuscular media de hemoglobina CHCM son sinónimos de hipocromía y están frecuentemente asociados a una deficiencia de hierro por pérdida crónica de sangre.

Si bien tanto el VCM como la CHCM son índices empleados en la clasificación morfológica de las anemias se debe tener en cuenta que debe existir una gran cantidad de eritrocitos macrocíticos, microcíticos o hipocrómicos en circulación

para que estos índices se modifiquen, por lo que éstos, no son suficientemente sensibles para detectar cambios moderados o iniciales en el desarrollo de una anemia.

3) El hematocrito (VCA) es el parámetro hematológico más fácil de utilizar para detectar una anemia. Siempre se debe interpretarse su valor teniendo en cuenta el estado de hidratación del animal y la presencia de contracción esplénica. Es por ello que siempre se deben medir las proteínas plasmáticas con un refractómetro.

En caninos: un VCA de 30-36% indica anemia leve, un VCA de 18-29% indica anemia moderada y un VCA < 18% indica anemia intensa (20).

La magnitud de la anemia por lo usual se correlaciona con su patogenia. Cuando se evalúa el VCM, el plasma debe examinarse por la evidencia de ictericia o hemólisis.

En cuanto a la clasificación de anemias regenerativas o arregenerativas hay discrepancias en la bibliografía por la consideración del porcentaje del índice reticulocitario en caninos y el porcentaje reticulocitario en felinos, eso podría deberse a partir de cuándo se realizó el conteo de reticulocitos, si fue en una anemia leve, moderada, o intensa. Cuanto más grave es la anemia el índice o porcentaje de reticulocitos va a ser mayor (1 o 2 %) para considerar la diferenciación entre ambas.

Anemias arregenerativas

En las anemias no regenerativas existe una respuesta anormal de la médula ósea que no puede mantener la eritropoyesis. El fallo medular puede ser primario o secundario a causas extramedulares y quedar limitado a la serie eritroide o bien afectar a otras líneas celulares.

Las anemias arregenerativas pueden producirse por afecciones medulares o extramedulares, como la hipoproliferación eritroide, enfermedad inflamatoria crónica y enfermedad renal crónica. Aunque tradicionalmente las anemias por deficiencia de hierro se clasificaron como arregenerativas, muchos caninos con hemorragia crónica que lleva a deficiencia de hierro desarrollan un grado leve (a moderado) de regeneración.

Con la excepción de la anemia de la enfermedad crónica (AEC), las anemias arregenerativas no son de presentación clínica tan frecuente como las regenerativas en los caninos, mientras que lo contrario ocurre en los felinos.

Se reconocen cinco formas de anemia arregenerativa en gatos y perros aunque, como se mencionara con anterioridad, la anemia por deficiencia de hierro (ADH) puede ser leve a moderadamente regenerativa. La mayoría de las anemias arregenerativas en gatos y perros son de carácter crónico, permitiendo la adaptación fisiológica a la reducción de la masa eritrocitaria. Estos tipos de anemias pueden detectarse de manera incidental durante la evaluación rutinaria de un paciente que es asintomático para su propietario ya que en muchos casos la anemia es leve y la sintomatología escasa.

En general los eritrocitos en los perros y gatos con anemias arregenerativas son normocíticos y normocromicos,

aunque suelen ser macrocíticos y normocromicos en los gatos con anemias hipoproliferativas inducidas por Leucemia viral felina (Vilef) o Inmunodeficiencia viral felina (Vif) y microcíticos e hipocromicos en los gatos y perros con ADH.

La evaluación clínica del perro o gato con anemia arregenerativa difiere de aquella del paciente con las formas regenerativas, porque la ausencia de regeneración suele reflejar las anormalidades primarias o secundarias de la médula ósea (anemias hipoproliferativas, AEC). En consecuencia después que se descartan las causas extramedulares, está indicada la aspiración o biopsia medular (20).

Anemia de las enfermedades inflamatorias y crónicas (AIC)

Constituye la forma más corriente de anemia arregenerativa en los perros. Durante la inflamación los macrófagos liberan interleucina 1 (I₁) que inicia diversos procesos entre los que se encuentra el secuestro de hierro por parte de los macrófagos, de manera que es menos accesible, disminuye la sideremia y restringe la disponibilidad de hierro para los rubricitos en desarrollo (30). En el laboratorio se observa disminución del hierro sérico, disminución total de la capacidad de conjugación del hierro (TIBC), aumento del hierro en los macrófagos medulares y una anemia de leve a moderada (23, 3).

Este tipo de anemia es secundaria a una variedad de condiciones inflamatorias crónicas, degenerativas o neoplásicas y debido a su magnitud, no suele cursar con signos clínicos. Los eritrocitos son normocíticos y normocromicos y el hemograma puede reflejar el proceso primario (leucocitosis, neutrofilia, monocitosis, hiperproteinemia resultante de una gammapatía policlonal). Sin embargo algunos gatos presentan índices hematimétricos microcíticos-hipocromicos.

En muchos gatos con AIC, los valores del VCA varían de altos a medios, mientras que en los perros lo hacen de medios a bajos, la concentración sérica de hierro y capacidad ligadora total de éste por lo general están disminuidas, al igual que la saturación de Hb.

La AIC por lo usual se excluye en gatos y perros con VCA menores del 20%. La diferencia entre AIC y ADH (anemia por deficiencia de Hierro) no es tan marcada como en humanos, por eso para diferenciarlas se evalúan los depósitos de hierro medulares mediante la coloración con azul de Prusia (2, 3,4).

Anemia de la enfermedad renal (AER)

En esta entidad el desarrollo de la anemia es multifactorial como consecuencia de la disminución en la producción de eritropoyetina (por disminuir la masa funcional renal) y una inhibición de esta hormona circulante, ocurriendo entonces una eritropoyesis inefectiva así como un acortamiento en la vida media de los eritrocitos.

Los VCA en los perros y gatos con AER suelen estar



Perman, V.; Schall, W. B. (1983) Diseases of the red blood cells. In Ettinger, S. J (ed): Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat. 2nd ed., vol. 2. Philadelphia, W. B. Saunders

en el rango de 20-30%, aunque son comunes los valores por debajo del 20% (10, 11)

Anemia por deficiencias endócrinas

Algunas hormonas, probablemente actúan incrementando el número de colonias eritroides formadas y modulando la fracción de células progenitoras eritroides que ingresarán a la diferenciación terminal. Ciertas afecciones como hipopituitarismo, hipoadrenocorticismo e hipotiroidismo pueden causar anemia arregenerativa leve (12).

Las hormonas tiroideas poseen un efecto directo sobre los precursores eritroides medulares y estimulan la producción de eritropoyetina (5).

Anemias hipoproliferativas: Aplasia-hipoplasia de la médula ósea (o eritroide)

Esta alteración se caracteriza por la aplasia o hipoplasia de todas las líneas celulares medulares (aplasia-hipoplasia medular o pancitopenia aplásica) o de los precursores eritroides (aplasia-hipoplasia eritrocitaria). El diagnóstico se confirma mediante el examen hisopatológico de la médula ósea.

Aplasia eritrocitaria pura (AEP): los perros y gatos presentan un VCA menor al 15% y por lo tanto son sintomáticos. Se observa macrocitosis en ausencia de reticulocitos, esto es un hallazgo constante en los gatos con AEP relacionada con VileF o VIF (7).

El gran volumen eritrocitario en tales casos se atribuye

a la displasia eritroide o diseritropoyesis inducida por el virus. En ocasiones los perros con AEP tienen esferocitos circulantes, sugiriendo una base inmune para la anemia. La reacción de Coombs directa también es positiva en algunos de estos casos y la anemia responde a la terapia inmunosupresora. Los gatos y perros con aplasia-hipoplasia de la médula ósea son pancitopénicos.

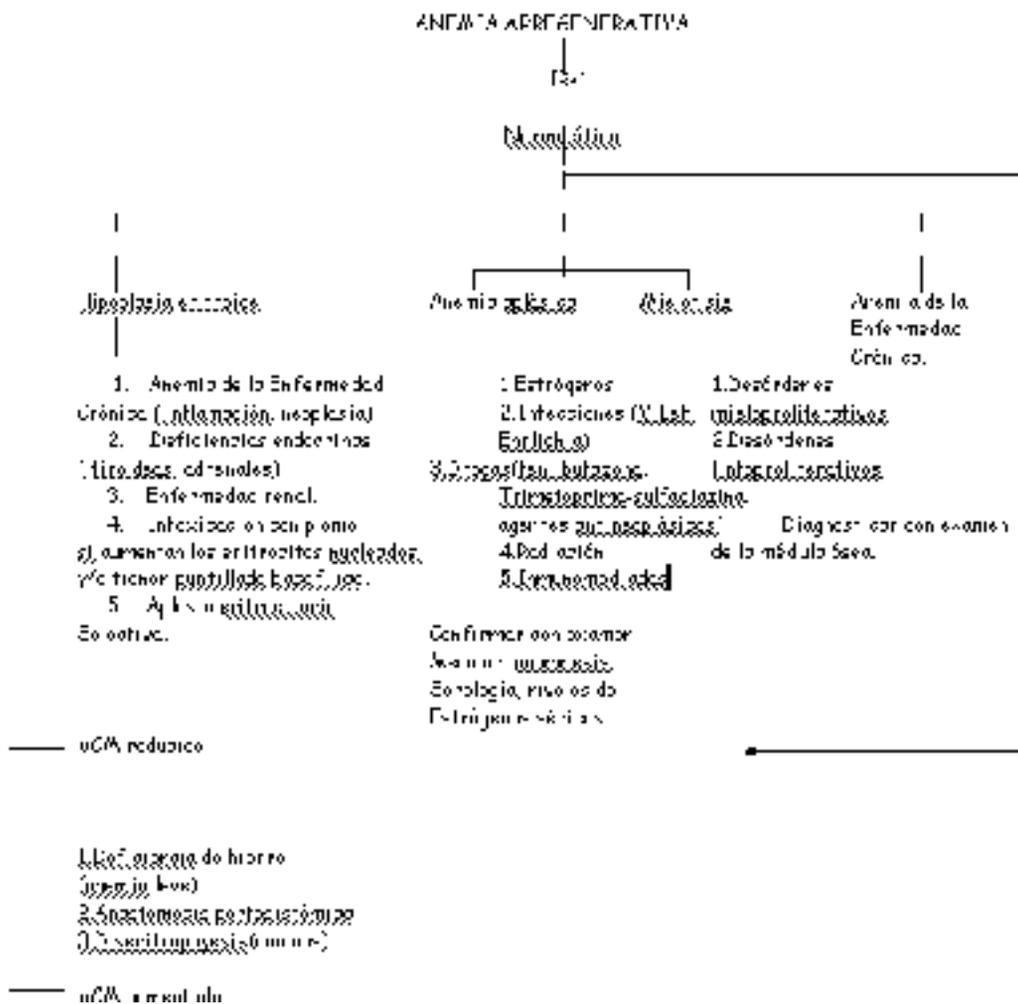
Entre las posibles causas también podemos mencionar, estrógenos ya sea endógenos (tumor de células de Sertoli) o exógenos. Drogas antiinflamatorias no esteroideas pueden causar aplasia medular (25, 26, 27, 28).

Anemia por deficiencia de Hierro (ADH)

La ADH suele clasificarse como arregenerativa, aun cuando los perros por lo regular exhiben regeneración leve a moderada. Esta forma de anemia está bien caracterizada en los perros con hemorragia crónica. En los gatos, la ADH sólo está bien caracterizada en los gatitos lactantes, en los cuales la suplementación de hierro lleva a la rápida resolución de las anomalías clínicas y hematológicas. La ADH es rara en los gatos adultos.

La hemorragia crónica que lleva a la depleción de hierro es común en los perros con sangrado gastrointestinal causado por ulceraciones gástricas, neoplasias o endoparásitos (por ej. anquilostomiasis). Las anemias por hemorragia comienzan como anemias muy regenerativas pero se transforman en arregenerativas cuando se produce déficit de hierro.

La mayoría de los frotis sanguíneos de caninos con ADH presentan eritrocitos microcíticos-hipocrómicos y reticulocitosis leve, con trombocitosis. Cuando se utilizan contadores celulares obtenemos otro dato que es el ancho de distribución eritrocitaria (RDW) que en este caso estaría elevado. Las concentraciones séricas de hierro TIBC (transferrina) están reducidas. Se presenta también el porcentaje de saturación reducido en extremo



1. Gatos FeLV-positivos
2. Desórdenes mieloproliferativos.

(por lo usual menor del 10%), baja concentración sérica de ferritina y depósitos de hierro disminuidos en la médula ósea. La médula ósea es hipercelular, con un número desproporcionado de metarubricitos y rubricitos, debido a que el nivel crítico de hemoglobina necesario para detener la división celular no se alcanza y aparecen divisiones extras.

La presencia de eritrocitos fragmentados y formas eritrocíticas anormales (poiquilocitosis) son hallazgo corriente en los frotis de pacientes con este tipo de anemia (9).

Conclusiones

La mayoría de las anemias arregenerativas en perros son de carácter crónico, permitiendo la adaptación fisiológica a la reducción de la masa eritrocitaria. Este tipo de anemia puede detectarse de manera incidental durante la evaluación rutinaria de un paciente que es asintomático para su propietario ya que

en muchos casos la anemia es leve y la sintomatología escasa. En felinos se relaciona esta anemia con el virus de la leucemia felina (FeLV).

La evaluación clínica del canino y/o felino con hallazgos de laboratorio que indican la presencia de anemia arregenerativa sugiere un fallo medular que puede ser primario o secundario a causas extramedulares y quedar limitado a la serie eritroide o bien afectar a otras líneas celulares. En estos casos existe una respuesta anormal de la médula ósea que no puede mantener la eritropoyesis. En general los eritrocitos en los perros con anemias arregenerativas son normocíticos y normocrómicos, en felino con FeLV son macrocíticos y normocrómicos.

En consecuencia después de que se ha detectado la presencia de anemia en el laboratorio es imprescindible realizar el IR a efectos de facilitar el diagnóstico clínico de la causa de anemia. En el caso de las anemias arregenerativas debemos además tener en cuenta otros datos del hemograma que nos sugieran el proceso primario como por ej. enfermedades crónica

(leucocitosis, neutrofilia, monocitosis), dosaje de proteínas (hiperproteinemias debido a gamopatías policlonales), realizar dosaje de hierro (Anemia por Déficit de hierro), perfiles bioquímicos (Fallo renal), hormonales (hipotiroidismo), exámen citológico de médula ósea y a partir de los resultados de laboratorio en conjunto con la historia clínica del paciente poder llegar a un diagnóstico definitivo e instaurar un tratamiento adecuado.

BIBLIOGRAFIA

1. Aird B. Clinical and hematologic manifestations of anemia. In Feldman, B. F.; Zinkl, J. G.; Jain, N. C. (2000) Schalm's Veterinary Hematology ed 5 Lippincott Williams & Wilkins p140-142.

Ed Panamericana

2. Erslev AJ. (1995) Anemia of chronic diseases. In Beutler E.; Lichtman; M.A.; Coller, B.S.; Kipps, T.J (eds): Williams Hematology, 5^{ed} New York, McGraw-Hill, p 518.

3-Feldman BF, Kaneko JJ, Farver TB. Anemia of inflammatory disease in the dog: ferrokinectis of adjuvant-induced anemia. Am J Vet Res 42: 583, 1981.

4. Feldman BF, Kaneko JJ, Farver TB. Anemia of inflammatory disease in the dog. Clinical characterization. Am J Vet Res 42: 1109, 1981.

5. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC. Schalm's Veterinary Hematology 2000.

6. Ford RB. Signos clínicos y diagnósticos en pequeños animales. 1992.

7. George JW, Rideout BA, Griffey SM, Pedersen NC. Effect of preexisting FeLV infection or FeLV and feline immunodeficiency virus coinfection on pathogenicity of the small variant of Haemobartonella felis in cats. J Am Vet Med Assoc. 2002 Jan 15; 220(2):185-9.

8. Jain NC. Schalm's Veterinary Hematology. 4th ed. Philadelphia, Lea and Febiger. 1986.

9. Harvey JW, French TW, Meyer DJ. Chronic iron deficiency anemia in dogs. JAAHA. 1982; 18:946-960.

10. King LG, Giger U, Diserens D, Nagode LA. Anemia of chronic renal failure in dogs. J Am Vet Med Assoc. 1991 Sep 1;199(5):601-5.

11. King LG, Giger U, Diserens D, *et al.* Anemia of chronic renal failure in dogs. J Vet Intern Med.(1992) 6:264.

12. Meyer- Harvey. El Laboratorio en Medicina Veterinaria. 2000.

13. Nelson RW, Couto CG. Small Animal Internal Medicine. 2nd ed. Mosby, (1998). p. 1161-1173.

14. Paltrinieri S, Sartorelli P, De Vecchi B, Agnes FJ. Metabolic findings in the erythrocytes of cardiopathic and anaemic dogs. Am Vet Med Assoc. 1998 Feb 15; 212(4): 521-8.

15. Paltrinieri S, Comazzi S, Agnes F. Haematological parameters and altered erythrocyte metabolism in anaemic dogs. J Am Anim Hosp Assoc. 1999 Sep-Oct;35(5):384-91.

16. Perman, V.; Schall, W. B. (1983) Diseases of the red blood cells. In Ettinger, S. J (ed): Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat. 2nd ed., vol. 2. Philadelphia,

W. B. Saunders.

17. Rebar A, Metzger F. Clinical Pathology for Small-Animal practitioners: Interpreting the hemogram. The Veterinary CE^R Advisor. Supplement to Veterinary Medicine. 1995.

18. Rebar AH. Anemia. En Ford. Signos clínicos y diagnóstico en pequeños animales. 1992.

P 75-99

19. Schalm, O.W: Morphologic classification of anemias: Vet. Clin. Pathol. 1978; 7:6-8.

20. Tvedten, H.; Weiss. D. J. Classification and laboratory evaluation of anemia. In Feldman, B. F.; Zinkl, J. G.; Jain, N. C. (2000) In Schalm's Veterinary Hematology ed 5 Lippincott Williams & Wilkins p143-150

21. Tyler RD, Cowell RL. Classification and diagnosis of anemia. Comp Haematol Int 1996. 6:1

22. Villiers E, Dunn JK. In: BSAVA. Manual of Small Animal Clinical Pathology. Davidson, M. Else, R. and Lumsden, J. eds. pp. 33-60. 1998.

23. Waner T, Harrus S. Anemia of inflammatory disease. In Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC. Schalm's Veterinary Hematology ed 5 Lippincott Williams & Wilkins p 205-209 Ed Panamericana. 2000.

24. Weiser MG. Erythrocyte responses and disorders. In: Ettinger, S. J. Textbook of Veterinary Internal Medicine. W. B. Saunders Company, pp. 1864-1891. 1995.

25. Weiss DJ, Adams LG. Aplastic anemia associated with trimethoprim-sulfadiazine and fenbendazole administration in a dog. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 1987 Nov;17(6):1443-61

26. Weiss DJ, Klausner JS. Drug-associated aplastic anemia in dogs: eight cases (1984-1988). J Am Vet Med Assoc. 1990 Jan 1; 196(1): 96-9

27. Weiss DJ. Aplastic anemia. In Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC. Schalm's Veterinary Hematology ed 5 Lippincott Williams & Wilkins p 212-215 2000. Ed Panamericana

28. Weiss DJ. Pure red cell aplasia. In Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC. Schalm's Veterinary Hematology ed 5 Lippincott Williams & Wilkins p 210-211 2000. Ed Panamericana

29. Willard Michael D, Tvedten H, Turnwald GH. Diagnóstico Clinicopatológico Práctico en los animales pequeños. Intermédica, pp. 39-61 1993.

30. Willard Michael D, Tvedten H, Turnwald GH. Small animal clinical diagnosis bay laboratory methods. 2nd Ed. Saunders Co. 1994.

USO VETERINARIO DE LA DESMOPRESINA COMO ADYUVANTE PERIOPERATORIO DURANTE LA EXTIRPACIÓN DE TUMORES SÓLIDOS

VETERINARY USE OF DESMOPRESSIN AS A PERIOPERATIVE ADJUVANT DURING EXTIRPATION OF SOLID TUMORS

Hermo G¹, Ripoll GV¹, Farina HG¹,
Turic E², Gobello C³,
Gomez DE¹, Alonso DF¹

¹Laboratorio de Oncología Molecular,
Universidad Nacional de Quilmes
R. Sáenz Peña 180, Bernal B1876BXD Buenos Aires,
Argentina.

²Gerencia de Investigación y Desarrollo, Laboratorio
Biogénesis-Bagó.

³Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad Nacional de La Plata.

Resumen

La desmopresina (DDAVP, 1-deamino-8-D-arginina vasopresina) es un análogo sintético de la hormona antidiurética vasopresina. Luego de su administración, induce una rápida liberación del factor VIII de la coagulación y del factor de von Willebrand, entre otros efectos biológicos. La DDAVP ha sido empleada en animales con diabetes insípida y en ciertos desórdenes sanguíneos, siendo un agente hemostático seguro y efectivo en cirugías con alto riesgo de sangrado. Resultados recientes en modelos experimentales y en ensayos en caninos con tumores mamarios mostraron que la DDAVP despliega propiedades antitumorales significativas al ser aplicada por vía endovenosa como adyuvante perioperatorio durante la extirpación de la masa tumoral. El tratamiento reduce la recurrencia local, la diseminación linfática y la progresión metastásica a distancia, prolongando en caninos el tiempo libre de enfermedad luego de la cirugía.

Abstract

Desmopressin (1-deamino-8-D-arginine vasopressin, DDAVP) is a synthetic derivative of the antidiuretic hormone. Desmopressin induces a quick release of coagulation factor VIII and von Willebrand factor and also has other physiological effects. Desmopressin has been used in animals with central diabetes insipidus and coagulation disorders. Desmopressin is a safe and effective hemostatic agent during surgery in patients with high bleeding risk. Recently, i.v. DDAVP showed significant antitumor properties in experimental models and spontaneous canine mammary tumors, acting as a perioperative adjuvant after tumor excision. The treatment reduced local relapses, lymphatic spread and distant metastatic progression, prolonging the disease free time after surgery.

Palabras clave desmopresina, caninos, tumores mamarios, metastasis

Key Words Desmopressin, canine, tumor, mammary, metastasis.

Introducción

Las hormonas peptídicas de la neurohipófisis son transportadas desde el hipotálamo a la hipófisis por unas proteínas denominadas neurofisinas, y están involucradas en una amplia gama de efectos biológicos. La oxitocina induce la eyección de leche y la contracción del útero, mientras que la vasopresina se encarga principalmente de mantener el balance hidrosalino, causando un efecto antidiurético e incrementando la presión arterial (North, 1987). La vasopresina despliega también otras acciones, incluyendo la contracción del intestino, la glucogenólisis hepática, la agregación plaquetaria, la liberación del factor VIII de la coagulación y del factor de von Willebrand (FVW) y la potenciación del factor liberador de corticotropina (Richardson y Robinson, 1985). No obstante, estos últimos efectos tienen principalmente un interés farmacológico, ya que se presentan en concentraciones de vasopresina 50 a 1000 veces superiores respecto de las que se encuentran normalmente en el plasma (Richardson y Robinson, 1985). Como se muestra en la Fig. 1, la secuencia peptídica de la vasopresina incluye 9 aminoácidos, presentando un puente disulfuro entre los aminoácidos de las posiciones 1 y 6.

La desmopresina (DDAVP, 1-deamino-8-D-arginina vasopresina) es un análogo sintético de la vasopresina, descrito por primera vez en los años 60 (Zaoral y col., 1967). Con la deaminación de la cisteína en posición 1 se prolonga el efecto antidiurético y con la sustitución de D-arginina en lugar de la L-arginina en la posición 8 se reduce drásticamente el efecto vasopresor (Fig. 1). El efecto máximo de la DDAVP ocurre 6 a 10 horas luego de su administración y la duración del efecto varía entre 8 y 24 horas (Felman y Nelson, 1987; Krause, 1986; Nichols, 1989). En animales puede ser suficiente administrar una única dosis vespertina para el control de la nicturia. En seres humanos se documentaron algunos casos de resistencia a la terapia prolongada, no habiendo sido comprobado en perros o gatos.

El rango de dosis de DDAVP aplicada por vía parenteral en animales es de 0,5 a 2 microg/kg (i.v. o s.c.). La inyección parenteral de DDAVP es útil cuando la droga no es tolerada o adecuadamente absorbida a través de las vías intranasal o conjuntival. La ruta parenteral también se indica en el tratamiento de los procesos hemorrágicos, debido que los niveles sanguíneos de DDAVP requeridos para un efecto hemostático satisfactorio son 5 a 10 veces mayores que para la acción antidiurética (Richardson y Robinson, 1985; Johnson y col., 1986; Johnson y Crane, 1986). La DDAVP es metabolizada por el hígado y el riñón, aunque es algo más lenta que la vasopresina. Cerca del 60 % es liberada por el riñón sin ser metabolizada (Richardson y Robinson, 1985).

Efectos biológicos de la DDAVP

En contraste con la hormona vasopresina, que inte-

racciona con varios receptores de membrana (V1a, V1b, V2 y V3), el análogo sintético DDAVP es un agonista selectivo del receptor V2. Este subtipo de receptor se expresa en los túbulos colectores del riñón y es responsable de la acción antidiurética de la hormona (Kaufmann y col., 2003 a). Además, el receptor V2 se expresa en las células endoteliales (Kaufman y col., 2003 b), mediando la mayoría de los efectos no renales de DDAVP. De manera interesante, la presencia del receptor de vasopresina fue demostrada en células epiteliales transformadas, y también documentada en varias variantes tumorales, incluido cáncer mamario y pulmonar (North, 2000). La expresión de receptores de neuropéptidos también fue detectada en diferentes líneas celulares de tumores humanos (Petit y col., 2001).

Los efectos vasopresor, glucogenolítico y agregante plaquetario de la vasopresina están mediados por receptores V1, dependientes de fosfatidilinositol, en tanto que la acción antidiurética y la liberación del factor VIII y FVW están mediados por receptores V2 dependientes de AMPc (Jard, 1985; Morel y col., 1987; Abramow y col., 1987). En los túbulos colectores del riñón, la activación del receptor V2 por vasopresina o DDAVP produce retención hídrica, merced a la inducción de la translocación de los canales de agua acuaporina-2, en un fenómeno de exocitosis mediado por AMPc (Yasui y col. 1997).

El FVW es una glicoproteína que juega un rol primordial en el mantenimiento de la homeostasia del organismo, facilitando la adhesión de plaquetas al subendotelio. Funciona como un transportador del factor VIII de la coagulación, protegiéndolo de la degradación proteolítica. El FVW es sintetizado como una proteína precursora en las células endoteliales y megacariocitos. Este precursor sufre dimerización, glicosilación, clivaje proteolítico y ensamblado de los dímeros clivados en un gran multímero (500-15.000 kDa). Los multímeros de FVW son almacenados en gránulos secretorios especializados denominados cuerpos de Weibel-Palade (Kaufmann y col., 2003 a). La DDAVP activa los receptores V2 e induce la secreción del FVW a través de la liberación de los cuerpos de Weibel-Palade. Por otra parte, DDAVP induce un incremento en los niveles plasmáticos del factor VIII de la coagulación, aunque los mecanismos no se encuentran totalmente comprendidos. La DDAVP podría inducir la secreción del factor VIII o favorecer su protección de la degradación proteolítica por el incremento del FVW (White y col., 2004).

El rol de la DDAVP en la fibrinólisis fue uno de los primeros efectos descritos para este compuesto sintético. La actividad profibrinolítica de la DDAVP es debido al incremento del activador tisular del plasminógeno (tPA), una enzima proteolítica encargada de convertir el plasminógeno en plasmina y de esta manera iniciar la degradación de fibrina. Se piensa que el endotelio vascular es la principal reserva de tPA plasmático. En células endoteliales cultivadas, el tPA se expresa en niveles bajos. La expresión aumenta en respuesta a shock cardiogénico, trombina, histamina, ácido retinoico, factor de crecimiento del endotelio vascular y butirato de sodio, usualmente por aumento de la actividad transcripcional. No obstante, existen evidencias *in vitro* e *in vivo*, que indican que el tPA es secretado a partir de

reservas celulares ya sintetizadas. En respuesta a DDAVP, se produce un incremento rápido del tPA plasmático, como ocurre con la administración sistémica de agentes beta-adrenérgicos (Wall y col., 1998). La co-localización del FVW y el tPA en el mismo compartimiento podría explicar el efecto coordinado de la DDAVP sobre los niveles plasmáticos de estas dos proteínas (Emeiss y col., 1997).

La DDAVP posee propiedades vasodilatadoras, asociadas a un descenso en las presiones sistólica y diastólica, aumento del gasto cardíaco y *rush* facial (Derx y col., 1983). Estudios de perfusión han demostrado que vasopresina y DDAVP ejercen un efecto vasodilatador directo luego de ser inyectados en forma intraarterial, por un mecanismo dependiente de óxido nítrico (Hayoz y col., 1997). Estas observaciones, sugieren una activación directa de la óxido nítrico sintetasa en el endotelio vascular, dependiente del receptor V2 y mediado por AMPc.

La molécula de adhesión P-selectina se expresa en células endoteliales contenida en los cuerpos de Weibel-Palade, como también en gránulos presentes en megacariocitos y plaquetas (McEver y col., 1989). Kanwar y col. demostraron que la DDAVP induce un incremento transitorio de la expresión de P-selectina sobre el endotelio de vena umbilical humana, como también en plaquetas humanas y de rata. Los primeros estudios indicaron que la expresión de P-selectina en las células endoteliales es muy importante durante el inicio de la interacción entre leucocitos y células endoteliales, conocido como rodamiento, requisito inicial para la adhesión y migración leucocitaria (Kanwar y col., 1995). Además, se ha demostrado que la DDAVP incrementa la capacidad de los monocitos sanguíneos de unirse activamente a las plaquetas, debido a la expresión de ligandos sialilados de P-selectina sobre la superficie de los monocitos (Pereira y col., 2003).

Algunos estudios mostraron que la inyección endovenosa de DDAVP es capaz de aumentar los niveles plasmáticos de norepinefrina (Grant y col., 1988). La administración central o periférica de DDAVP incrementaría la actividad locomotora en ratas en condiciones en las cuales se afecta la neuroquímica de la dopamina. Utilizando diferentes compuestos con actividad adrenérgica, se ha demostrado que la acción estimulante central de DDAVP involucra la liberación de dopamina y la activación de los receptores dopaminérgicos. Posiblemente, también los receptores alfa-adrenérgicos se encuentren involucrados (Di Michele y col., 1998).

Efectos secundarios de la DDAVP

La DDAVP es segura para perros y gatos, según estudios en animales con diabetes insípida. La única complicación de cierta importancia es la inducción de intoxicación hídrica luego de aplicaciones repetidas. Esta complicación poco habitual, está en relación a alteraciones del componente inhibitorio del mecanismo de la sed y podría evitarse reduciendo la ingesta de líquidos.

Es recomendable continuar la administración de DDAVP sólo cuando vuelve a manifestarse la poliuria. Idealmente, si la causa de la poliuria/polidipsia es incierta, debe medirse la natremia durante varios días después de iniciar la terapia antiurética. Si hay hiponatremia, debe detenerse el tratamiento y reconsiderarse el diagnóstico (Ettinger y Feldman, 1997).

Los episodios trombóticos asociados al uso de DDAVP son infrecuentes. En una revisión de casos reportados en seres humanos, el riesgo protrombótico fue estimado en 0.0001% (Rodeghiero y col., 1991).

Uso clínico de la desmopresina

Tradicionalmente, la DDAVP ha sido utilizada por sus propiedades antiuréticas, como tratamiento de la diabetes insípida central y otras patologías que cursan con poliuria. Se introdujo más tarde su uso en hemofilia A y enfermedad de von Willebrand, entre los desórdenes congénitos de la coagulación más frecuentes. En función de sus propiedades farmacológicas, las indicaciones clínicas para DDAVP se han ido expandiendo a otras enfermedades y situaciones clínicas.

Diabetes insípida

La diabetes insípida es una condición patológica infrecuente, caracterizada por poliuria y polidipsia. Los signos y cambios bioquímicos son la consecuencia de la falta de vasopresina o de una insensibilidad renal a los efectos antiuréticos de esta hormona. La falla en la producción o liberación podría deberse a una afección del sistema nervioso central, que involucra a la neurohipófisis, mientras que la falta de respuesta a la vasopresina afecta a animales con la denominada variante nefrogénica, debida a defectos genéticos, drogas (especialmente litio) u otros procesos patológicos específicos del riñón.

La diabetes insípida central (DIC) se caracteriza por la ausencia absoluta o relativa de la vasopresina circulante, y se clasifica como primaria (idiopática o congénita) y secundaria. La forma idiopática es la más corriente en medicina veterinaria, mientras que la congénita es bastante más rara. La DIC secundaria suele deberse a trauma o tumor craneano (Felman y Nelson, 1987; Post y col., 1989). La DIC postraumática puede resultar irreversible, pero con frecuencia persiste sólo por unos días o semanas (Post y col., 1989). La diabetes insípida nefrogénica (DIN) se asocia con la resistencia tubular a las acciones de la vasopresina (Authement y col., 1989). Esta insensibilidad del órgano efector parece relacionarse con un defecto de los receptores V2. La DIN congénita o primaria parece ser infrecuente en veterinaria (Felman y Nelson, 1987; Grunbaum y Moritz, 1991). En los seres humanos, la rara forma congénita de la DIN se supone recesiva y ligada a X (Felman y Nelson, 1987). Las causas de la DIN adquirida o secundaria, incluyen una variedad de trastornos renales y metabólicos, como pielonefritis, falla renal

crónica, hipercalcemia, hipocaliemia, hiperadrenocorticismo, hipertiroidismo, insuficiencia hepática y piómetra. La ingesta excesiva de agua a veces se clasifica como un tipo de diabetes insípida; puede derivar de un defecto en el mecanismo de la sed (forma dipsogénica) o ser una manifestación de alteraciones conductuales, en cuyo caso se la suele designar polidipsia primaria, polidipsia psicogénica o sed compulsiva (Felman y Nelson, 1987; Robeason, 1988; Post y col., 1989; Authement y col., 1989; Grunbaum y Moritz, 1991; Robertson, 1984).

La DIC puede presentarse a cualquier edad, sin importar la raza o el sexo. Las formas primarias de la DIC y DIN tienden a ser raros defectos congénitos y por lo tanto se diagnostican más tempranamente (Felman y Nelson, 1987; Post y col., 1989; Grunbaum y Moritz, 1991). El examen físico en la mayoría de los perros o gatos con DIN y DIC primaria es inespecífico, a pesar de la presencia de poliuria, polidipsia, nicturia e incontinencia. La sed insaciable fuerza al animal a beber cualquier líquido que esté a su alcance, incluida su propia orina. Como estas mascotas buscan agua en forma constante, algunas se muestran inquietas, con anorexia parcial y pueden perder peso. Los animales con DIC secundaria a neoplasia hipotalámica o hipofisaria pueden tener signos adicionales. Estos incluyen desde deficiencias visuales, letargia, incoordinación, marcha desorientada y convulsiones, hasta múltiples alteraciones indefinidas (Nelson y col., 1989; Davidson y col., 1991; Eckersly y col., 1991; Bilzer, 1991).

Coagulopatías hereditarias

Los desórdenes hemostáticos hereditarios provienen de la producción anormal de uno o más factores coagulantes específicos, ya sea debido a hipoproducción o generación de factores afuncionales. En la mayoría de los casos el trastorno comprende un solo factor, pero se han comunicado deficiencias hereditarias de múltiples factores en perros (Dodds, 1989; Fogh and Fogh, 1998; Otto y col., 1991; Randolph y col., 1986) y gatos (Dillon y Boudreaux, 1988; Littlewood and Evans, 1990).

La deficiencia del factor VIII (hemofilia A) es el defecto más común que ocurre en la mayoría de las razas caninas y en varias felinas (Dodds, 1989; Littlewood and Evans, 1990). Se hereda como un desorden recesivo ligado a X. La enfermedad se da casi con exclusividad en machos, pero se ha documentado la enfermedad natural en una perra (Murtaugh y Dodds, 1998).

Otra grave coagulopatía hereditaria relativamente común es la enfermedad de von Willebrand, con más de 50 razas caninas afectadas (Dodds, 1989). En algunas razas, la incidencia llega a ser elevada. En un estudio, el 73% de Doberman Pinscher, 30% de Terriers escoceses y 28% de Pastores de Shetland tuvieron concentraciones reducidas del FVW (Brooks y col., 1992). La intensidad de las tendencias hemorrágicas depende de la concentración y tipos de FVW presentes. La estructura multimérica del FVW arroja una variada y compleja presentación de sus formas funcionales (Johnson, 1998; Meyers y col., 1992). Los multímeros de mayor peso molecular tienen más actividad

hemostática, debido al mayor número de receptores plaquetarios que ponen en juego (Meyers y col., 1992). En consecuencia, las variaciones en la tendencia hemorrágica entre las variantes de la enfermedad en los perros está determinada por las diferencias cuantitativas para la deficiencia de multímeros de alto peso molecular. La enfermedad de Von Willebrand de tipo I, la forma más común en los perros, es una enfermedad heterogénea resultante de la deficiencia generalizada de todos los multímeros de FVW. Se hereda como rasgo autosómico dominante incompleto. Los heterocigotos que portan el rasgo, son asintomáticos o tienen una tendencia hemorrágica leve a moderada (Dodds, 1989). Los homocigotos a menudo nacen muertos o fallecen al poco tiempo (Dodds, 1984). La enfermedad de tipo III es un déficit mucho más grave de todos los multímeros, sin detección de FVW (Raymond y col., 1990). Se hereda como rasgo autosómico recesivo en el Terrier escocés y en el Chesapeake Bay retriever. Los heterocigotos son asintomáticos, mientras que los homocigotos muestran tendencia hemorrágica moderada a intensa (Dodds, 1989). La enfermedad de tipo II es la más rara y se caracteriza por deficiencia de multímeros de alto peso molecular. Sólo se la identificó en una familia de Kurzhaar (Johnson y col., 1998; Raymond y col., 1990). La enfermedad de Von Willebrand ha sido comunicada en un gato Himalayo, aunque no se confirmó una base genética (French y col., 1987).

Los signos clínicos exhibidos por animales con coagulopatías hereditarias están influenciados por muchos factores, comenzando por la magnitud del déficit y función del factor deficiente en la hemostasia normal. Las anomalías hemostáticas graves cursan con episodios de hemorragia espontánea en el curso temprano de la vida y pueden producir muerte neonatal. Los pacientes con enfermedad de Von Willebrand tienen sintomatología que recuerda a los defectos plaquetarios, debido a la inadecuada adhesión plaquetaria mediada por el FVW durante la formación del tapón hemostático primario. Los signos clínicos suelen incluir epistaxis, sangrado estral o posparto prolongado y hematuria o melena por hemorragia en las superficies mucosas. El sangrado excesivo es común luego de la cirugía, extracción dental o si las uñas se recortan muy cerca de su base (Johnson y col., 1988; Meyers y col., 1992; Dodds, 1984). En el Doberman Pinscher con enfermedad de Von Willebrand, el aumento de la tendencia hemorrágica sucede durante la otoplastia cosmética, cuando los niveles de FVW son menores del 30 % del normal (Johnson y col., 1985). El aumento de la tendencia hemorrágica en perros enfermos puede deberse a estrés, desequilibrios hormonales o enfermedades concurrentes (como infecciones virales o bacterianas) que afectan el mecanismo hemostático (Dodds, 1984). El hipotiroidismo en los perros se asoció con bajas concentraciones plasmáticas del FVW, que aumentaba con la suplementación tiroidea (Dodds, 1984). No obstante, no se halló correlación entre el hipotiroidismo y las concentraciones plasmáticas de FVW (Lumsden y col., 1993).

El manejo de los animales con defectos graves de la coagulación se restringe en gran medida a la transfusión periódica de sangre entera o plasma durante los episodios

hemorrágicos. La administración de DDAVP es una alternativa a la terapia transfusional en humanos y caninos con enfermedad de Von Willebrand. En los seres humanos, la administración de DDAVP aumenta los niveles plasmáticos del FVW a más del doble, presuntamente por liberación desde los sitios de depósito (Meyers y col., 1992; Giger y Dodds, 1989). La respuesta máxima se alcanza 1 ó 2 horas luego de la administración. El uso de DDAVP en dosis de 0.3 a 3 microg/kg en perros con enfermedad de Von Willebrand tipo I rindió resultados muy variables, con algunos animales que no demostraban un aumento relevante en los niveles de FVW (Meyers y col., 1992; Giger y Dodds, 1989; Johnstone y Crane, 1987). La administración de DDAVP parece inducir un aumento más significativo en la actividad del FVW, según lo determinado mediante estudios de agregación plaquetaria, asociado tal vez a una liberación de multímeros de alto peso molecular (Johnson y col., 1988; Graus y col., 1987). Los tiempos de sangría se acortan en la mayoría de los perros con enfermedad de Von Willebrand tipo I que recibieron DDAVP, sin una clara asociación en las variaciones en las concentraciones del FVW. Esto sugiere que la DDAVP puede afectar la hemostasia mediante mecanismos diferentes del FVW (Meyers y col., 1992).

Desórdenes de la coagulación inducidos por drogas

La DDAVP contrarresta los efectos de algunas drogas antitrombóticas (Butler y col., 1993), acortando el tiempo de sangría prolongado que inducen una amplia variedad de agentes antiplaquetarios usados en clínica humana y veterinaria. Los principales mecanismos asociados con la disfunción plaquetaria medicamentosa incluyen la inhibición de prostaglandinas y la interferencia con los receptores de membrana.

Uno de los grupos farmacológicos más comunes que inhiben la función plaquetaria corresponde a los antiinflamatorios no esteroides, que deberían usarse con cautela en animales que presentan defectos plaquetarios cualitativos hereditarios. Debido a la presencia de salicilatos en muchas preparaciones de venta libre con acción analgésica y antifebril, los problemas tóxicos de estas drogas pueden notarse en animales tratados de forma incorrecta por el propietario (Handagama, 1986). Los gatos son particularmente sensibles a la disfunción plaquetaria inducida por la aspirina debido a la carencia de glucoronil transferasa, la enzima necesaria para el metabolismo de los salicilatos (Handagama, 1986). Aunque se requiere más evidencia clínica, la DDAVP podría proveer una oportunidad para el manejo de los desórdenes de la hemostasia inducidos por estas drogas.

Falla renal o hepática

En animales con falla renal se observan anomalías funcionales en las plaquetas. Los metabolitos de la urea

responsables de estas disfunciones son poco conocidos, pero ciertos compuestos fenólicos que se acumulan en la uremia podrían inhibir la agregación plaquetaria. El sangrado propio de la uremia es usualmente mucocutáneo y refleja anomalías de las plaquetas o alteraciones hemostáticas vasculares. La DDAVP es una alternativa apropiada y segura para la profilaxis y tratamiento de las alteraciones hemorrágicas asociadas con uremia terminal (Lens y col., 1988).

En ocasiones la función plaquetaria se altera también durante las afecciones hepáticas, pero los mecanismos por los cuales se produce sangrado no son claros. No obstante, se reportó que la DDAVP podría ser útil en estas situaciones (Mannucci y col., 1986).

Reducción de la pérdida de sangre durante la cirugía

Varios investigadores han evaluado si la DDAVP aporta beneficios durante cirugías en las cuales la pérdida de sangre es grande y podrían ser necesarias transfusiones sanguíneas repetidas. Las cirugías a corazón abierto con circulación extracorpórea son operaciones en las cuales es necesario adoptar medidas para preservar la sangre. Se han obtenido resultados variados y contradictorios con el uso de DDAVP en este tipo de cirugías. La mayoría de los estudios no tuvieron un tamaño muestral suficiente para poder demostrar estadísticamente diferencias en relación a la administración de DDAVP.

Un meta-análisis de 17 ensayos clínicos controlados, con un total de cerca de 1200 pacientes humanos que experimentaron cirugía a corazón abierto, ha intentado poner en evidencia las ventajas y limitaciones del uso de DDAVP. En conjunto, la DDAVP reduce la pérdida de sangre en un 9%. Aunque DDAVP no tendría una acción relevante cuando las pérdidas son pequeñas, se encontró que el tratamiento es beneficioso en cirugías cardíacas donde la pérdida de sangre es mayor a 1 litro (Cattaneo y col., 1995).

La DDAVP como agente antitumoral

Luego de describir el uso clínico corriente de la DDAVP, a continuación se presentarán los fenómenos biológicos que se asocian a la progresión metastásica del cáncer y se analizarán las propiedades antitumorales de la DDAVP en estudios preclínicos sobre modelos murinos y en un ensayo preliminar en perras con tumores mamarios malignos localmente avanzados. El conocimiento aportado por la literatura acerca de este compuesto sintético, será relacionado con las nuevas evidencias que muestran a la DDAVP como un potencial adyuvante (o neoadyuvante) de utilidad en la cirugía oncológica.

Biología de la invasión tumoral y metástasis

Para formar un tumor secundario, las células agresivas del tumor primario deben invadir tejidos adyacentes, penetrar los vasos, y viajar hacia otros sitios donde se detienen, se extravasan y pueden comenzar un nuevo crecimiento (Fidler, 1991). La diseminación metastásica es la principal causa de mortalidad en los pacientes con cáncer. De todas las células tumorales que entran a la circulación sanguínea solamente una pequeña fracción, mucho menor al 1%, sobrevivirá para producir un tumor secundario. De tal manera que el proceso metastático puede ser considerado ineficiente, pero con frecuencia letal cuando se desarrolla y afecta a órganos vitales (Fidler, 1997).

La capacidad metastásica depende también de la angiogénesis, un fenómeno por el cual el tumor induce la formación de nuevos vasos sanguíneos, comenzando por brotes capilares y progresando hacia la red vascular. Los nuevos vasos sanguíneos dentro y alrededor de la masa tumoral proveen nutrientes para el crecimiento tumoral y dan acceso a la circulación para la embolización de células metastásicas (Thorgeirsson y col., 1994). El proceso de invasión puede ser dividido en tres pasos secuenciales: (1) la adhesión de las células tumorales a la membrana basal u otras estructuras de la matriz extracelular, (2) la disgregación de la membrana basal por digestión proteolítica y (3) la migración de las células invasivas a través la membrana basal modificada (Liotta, 1986). Las similitudes biológicas observadas en los procesos de invasión tumoral y angiogénesis subrayan la función cooperativa de las células tumorales y las células endoteliales durante el proceso de progresión tumoral.

La adhesión de las células tumorales a la membrana basal involucra el anclaje específico a glicoproteínas de la matriz, tales como fibronectina, laminina y colágenos, las cuales se unen a una variedad de receptores de la superficie de las células tumorales. Para penetrar, las células invasoras deben romper segmentos locales en la estructura organizada de la lamina basal, un proceso regulado y preciso que involucra a enzimas proteolíticas. Una vez que las células tumorales ingresan al estroma, fácilmente pueden ganar acceso a los capilares sanguíneos neoformados o vasos linfáticos. Son cuatro las clases de proteasas relevantes en el proceso de invasión, incluyendo a serino-, aspartil-, cisteíno- y metalo-proteasas. A su vez, se describieron algunas subclases de metaloproteasas especialmente destacadas en la progresión metastásica (colagenasa intersticial, colagenasa tipo IV y estromelina), como también de serinoproteasas (activador del plasminógeno de tipo uroquinasa). Se dispone de evidencias que indican que las células tumorales elaboran diferentes tipos de proteasas, las cuales junto con proteasas expresadas por células del microambiente tumoral – células endoteliales, fibroblastos y células inflamatorias – son capaces de degradar la compleja barrera que oponen membranas basales y demás matrices colágenas (Thorgeirsson y col., 1994).

La invasión y metástasis requieren de una activa motilidad celular, tanto por parte de las células endoteliales en la angiogénesis como también por las propias células tumorales. La migración es iniciada por pseudópodos, seguido por el avance de la célula completa. La locomoción involucra el ensamblado y desensamblado de filamentos de actina, gobernado por transducción de señales celulares específicas (Gomez y col., 1999). Una vez que las células tumorales alcanzan una estructura vascular, están listas para circular dentro del torrente sanguíneo o la linfa y alcanzar sitios distantes.

Aunque un gran número de células cancerosas podrían liberarse a partir de un tumor primario agresivo, son pocas las que generan metástasis. Esta aparente "ineficiencia" del proceso metastático mencionada más arriba, ha sido bien documentada en observaciones en seres humanos y en modelos animales. Mediante el conteo de colonias en los pulmones luego de aplicar una inyección endovenosa de células cancerosas en suspensión a animales de laboratorio, es posible obtener una cuantificación precisa de la formación de nódulos metastásicos (Weiss y col., 1982). Aún empleando tumores transplantables altamente agresivos, la eficiencia es del 0,1% o menos. Estudios cinéticos efectuados en ratones, apuntan a una masiva destrucción de células tumorales en la microcirculación. Como resultado de daños mecánicos por interacción con las paredes de la microvasculatura y de distintos mecanismos de respuesta inmunológica, las células tumorales son destruidas en minutos o en unas pocas horas (Weiss y col., 1983).

Siguiendo estas evidencias, se ha encontrado que las células viables individuales o no agregadas a menudo fallan para formar metástasis, mientras que las células tumorales que conforman conglomerados o émbolos multicelulares desarrollan una alta capacidad metastásica luego de ser inyectadas por vía venosa (Panis y col., 1992). Recientemente, Topal y col. han demostrado que células de cáncer colónico agregadas tienen una alta eficiencia metastásica en el hígado comparada con células no agregadas. Las metástasis hepáticas fueron observadas en 81% de las ratas después de una inyección intraportal de 5×10^5 células tumorales bajo la forma de agregados multicelulares. En cambio, la eficiencia metastásica bajó al 16% después de la inyección de la misma cantidad de células viables pero en forma desagregada, como suspensión monocelular (Topal y col., 2003). Al agregarse, las células tumorales podrían sobrevivir en grandes aglomerados y ser atrapadas en la microcirculación, donde lograrían adherirse a las células endoteliales. De esta forma, serían capaces de soportar las agresiones mecánicas y evadir los mecanismos de defensa del hospedador, estando en condiciones de formar tumores secundarios.

Las células tumorales ingresadas a la corriente sanguínea interactúan con componentes del sistema hemostático. Esta interacción resulta en el depósito de fibrina alrededor de las células tumorales, determinando la formación de microtrombos que incrementan la eficiencia del proceso de metástasis (Costantini y col., 1992). Este "capuchón" de fibrina aumenta las probabilidades de atrapamiento de las células tumorales en

la microvasculatura del órgano blanco y también las protege de las agresiones del sistema inmune (Gunji y col., 1998). En línea con estos conceptos, hemos demostrado el incremento de la colonización pulmonar por células metastásicas de carcinoma mamario, cuando fueron administradas junto con un potente inhibidor sintético de la enzima profibrinolítica uroquinasa durante los primeros estadios de la formación de metástasis hemáticas. Se aportaron evidencias acerca de la formación de émbolos tumorales multicelulares en respuesta a la administración de la droga (Alonso y col., 1996).

Manipulación tumoral y desarrollo de metástasis

La manipulación quirúrgica puede provocar la liberación de células tumorales viables hacia la circulación. La presencia de células cancerosas en la sangre periférica ha sido confirmada mediante técnicas de retrotranscripción seguida de reacción en cadena de la polimerasa en pacientes humanas operadas por cáncer mamario (Brown y col., 1995). De manera similar, la quimioterapia convencional podría causar un efecto movilizador sobre las células cancerosas. En un estudio prospectivo se demostró el reclutamiento de células tumorales hacia la sangre periférica, después del primer ciclo de quimioterapia en pacientes con cáncer de mama (Sabbatini y col., 2000). Otros autores han comunicado la presencia de células tumorales en una serie de ganglios linfáticos axilares luego de la manipulación de tumores mamaros (Carter y col., 2000). Al respecto, se describió la presencia de células epiteliales en el seno subcapsular del ganglio linfático drenante, que podría atribuirse a un mecanismo de transporte del epitelio tumoral, secundario a la manipulación biópsica o quirúrgica. Moore y col. han investigado mediante inmunohistoquímica si el patrón metastático del ganglio centinela en cáncer mamario está relacionado con la manipulación tumoral. Los datos sugirieron que la frecuencia de ganglios positivos se incrementaría con la manipulación tumoral (Moore y col., 2000).

Varios estudios experimentales en modelos animales han confirmado que la manipulación de tumores intrabdominales durante procedimientos de laparotomía o laparoscopia es un factor gravitante en la diseminación metastásica (Mutter y col., 1999). En un modelo murino de esplenectomía laparoscópica de un adenocarcinoma, se demostró que la recurrencia portal disminuye con el incremento de la experiencia del cirujano, sugiriendo que las deficiencias en la técnica quirúrgica constituyen la principal causa de recurrencia (Lee y col., 2000). Se obtuvieron también interesantes resultados en un modelo experimental de cáncer mamario en ratones. Se inoculó en el tejido adiposo mamario células del adenocarcinoma TA3Ha y, más tarde, los tumores resultantes fueron extirpados quirúrgicamente en un intento curativo. En estas condiciones, la quimioterapia perioperatoria con doxorubicina redujo la recurrencia local, las metástasis axilares, y las metástasis pulmonares, y también

prolongó el tiempo libre de enfermedad (Murthy y col., 1996).

Efecto de la DDAVP sobre la diseminación tumoral en un modelo de cáncer mamario

Desde hace algunos años, hemos venido examinando el efecto de las hormonas neuropeptídicas sobre el modelo de carcinoma mamario F3II (Alonso y col., 1997). Reportamos que la vasopresina y el derivado sintético DDAVP pueden modular *in vitro* el crecimiento de células tumorales y la secreción de uroquinasa, una enzima profibrinolítica involucrada en las metástasis hemáticas. El incremento de la fibrinólisis entorno del émbolo tumoral podría prevenir el recubrimiento con fibrina intravascular y así disminuir la supervivencia de las células tumorales dentro de la circulación (Alonso y col., 1996). En ensayos *ex vivo*, estudiamos la formación de agregados multicelulares de células tumorales mamaras en presencia de plasma a partir de ratones controles o tratados con DDAVP. Luego de un corto tiempo, el plasma control fue capaz de inducir la agregación de las células tumorales, que quedaron atrapadas en un gel de fibrina coagulada. En contraste, en presencia de plasma de ratones tratados con DDAVP, la mayoría de las células tumorales permanecieron en una suspensión monocelular (Alonso y col., 1999).

Abordamos el estudio *in vivo* del efecto de la DDAVP sobre la colonización pulmonar experimental de células de cáncer mamario altamente agresivas en ratones singénicos Balb/c. La inyección endovenosa de DDAVP (1 a 2 microg/kg) al momento de la inoculación de células del carcinoma F3II, inhibió significativamente la formación de metástasis pulmonares experimentales. Se obtuvieron resultados similares empleando el adenocarcinoma mamario parental LM3. En ambos casos, el número de nódulos pulmonares se redujo en cerca de un 70% en los ratones tratados con DDAVP. Se obtuvo también un efecto antimetastásico con la administración endovenosa de DDAVP 24 horas después de la inoculación de las células tumorales (Alonso y col., 1999). El pretratamiento *in vitro* de células cancerosas con concentraciones comparables de DDAVP, seguido por el lavado del compuesto, no afectó la capacidad metastásica, descartando la posibilidad que la DDAVP ejerza de manera directa la actividad antitumoral. En este sentido, en las dosis empleadas la DDAVP no produjo efectos citotóxicos directos ni afectó la viabilidad de células tumorales en suspensión o cultivadas en monocapas. En otra serie de experimentos *in vivo*, pudo comprobarse un efecto inhibitorio de la DDAVP endovenosa sobre la angiogénesis inducida por el tumor. El compuesto sería capaz de estimular la formación de angiostatina -un potente antiangiogénico natural derivado del plasminógeno- tanto en células cancerosas mamaras humanas como animales (Ripoll y col. 2004).

En principio, los experimentos sugieren fuertemente que el tratamiento con DDAVP estaría poniendo en juego me-

canismos biológicos capaces de deteriorar la supervivencia o implantación de las células cancerosas liberadas desde el tumor primario. Considerando esta acción antitumoral, como también sus conocidas propiedades hemostáticas, la DDAVP se erige como un excelente candidato para ser aplicado como terapia adyuvante durante e inmediatamente después de la cirugía del cáncer. Para examinar esta potencial utilidad de DDAVP en oncología, investigamos el efecto sobre la diseminación local/regional hacia ganglios linfáticos y sobre las metástasis a distancia en pulmón. Se empleó un modelo murino preclínico de carcinoma mamario, sometiendo los tumores primarios a manipulación tumoral y extirpación quirúrgica.

Los ratones portadores de tumores mamarios fueron anestesiados y la masa tumoral subcutánea recibió una manipulación experimental a una presión controlada de 0,5 kg/cm² durante 2 minutos. Para examinar las propiedades antitumorales de DDAVP, los tumores recibieron tres manipulaciones experimentales semanales, seguidas por la extirpación quirúrgica de la lesión. La DDAVP fue administrada en forma endovenosa en dos dosis de 2 microg/kg, 30 minutos antes y 24 horas después de cada manipulación o cirugía. Al finalizar el experimento, los ratones fueron sacrificados y se efectuó una autopsia completa. La manipulación tumoral indujo una masiva diseminación hacia los ganglios axilares e incrementó hasta 6 veces el número de metástasis pulmonares. El tratamiento perioperatorio con DDAVP redujo dramáticamente la diseminación local/regional. La incidencia de ganglios axilares afectados en los animales tratados con DDAVP fue apenas del 12%, mientras que casi el 90% de los animales sin tratamiento mostraron metástasis linfáticas (Giron y col., 2002). En la mayoría de los animales tratados con DDAVP el análisis histopatológico de las muestras de ganglios axilares mostró histiocitosis sinusal sin presencia de células tumorales. La histiocitosis es considerada un indicador de resistencia antitumoral en pacientes con cáncer de mama (Loboda y col., 1982). En cambio, los ganglios de los animales control, evidenciaron metástasis masivas, sin signos de histiocitosis sinusal. Las metástasis pulmonares se redujeron en un 65% en los animales tratados con DDAVP al finalizar el experimento (Giron y col., 2002). La aplicación perioperatoria de DDAVP se mostró segura en las dosis utilizadas en este modelo preclínico, y se obtuvo acción antitumoral sin observarse efectos tóxicos de importancia.

Acción de la DDAVP sobre caninos con tumores mamarios malignos

Los tumores de las glándulas mamarias en los caninos se encuentran entre las entidades patológicas más comunes en la consulta veterinaria (Johnston, 1993; Mc Ewen y Withrow, 1996; Moulton, 1990), y las neoplasias de la mama son las más frecuentes en los órganos reproductores de la hembra canina

(Cotchin, 1954). Representan aproximadamente el 42% de la totalidad de los tumores caninos y el 82% de los que aparecen en los órganos reproductores femeninos (Brodey y col., 1983; Moulton, 1990; Gobello y Corrada 2001). El tratamiento de elección es la mastectomía (Mc Ewen y Withrow 1996) y el diagnóstico definitivo se basa en el estudio histológico de la mama afectada luego de su extirpación (Fergusson, 1985).

Hasta el momento, el uso de quimioterapia adyuvante en caninos con tumores malignos de glándula mamaria es incierto y los resultados son algo contradictorios (Hahn y col., 1992; Karayannopoulou y col. 2001; Mc Ewen y Withrow 1996; Ogilvie y col., 1989). La utilización de agentes antihormonales como adyuvantes está también restringida debido a los efectos colaterales severos que tienen en esta especie (Morris y col., 1993; Kitchell, 1995). Se torna difícil aconsejar al propietario de un animal la aplicación de terapia adyuvante luego de la cirugía, considerando los efectos adversos y la poca información publicada que apoye su uso. Por lo expuesto, se espera que ensayos futuros en esta especie se concentren en el desarrollo de nuevos protocolos con agentes adyuvantes seguros y efectivos.

Atendiendo a lo expuesto más arriba sobre las propiedades antitumorales de la DDAVP en modelos experimentales, decidimos evaluar sus efectos sobre el período libre de enfermedad y supervivencia en perras con tumores mamarios localmente avanzados, aplicando el compuesto de manera perioperatoria durante la mastectomía.

Se evaluaron más de 20 perras mestizas o de diferentes razas, no castradas, de entre 8 y 15 años y de 5 a 40 kg, que presentaron tumores mamarios malignos estadio III ó IV, según confirmación por biopsia diferida (Hampe y Misdorp, 1974). La presencia de metástasis pulmonares se descartó mediante radiografías de tórax. Las perras recibieron aleatoriamente DDAVP, en dos dosis endovenosas de 1 microg/kg en solución salina 30 minutos antes y 24 horas después del acto operatorio o sólo el vehículo salino en el mismo volumen y esquema que para los animales tratados (Tabla I). Las perras se premedicaron con sulfato de atropina (0,045 mg/kg s.c.), maleato de acepromazina (0,03 mg/kg s.c. y butorfanol (0,2 mg/kg, i.m.). La anestesia se indujo con tiopental sódico (8 mg/kg, i.v.) y luego de la intubación endotraqueal se mantuvo con halotano y oxígeno. Los tumores fueron extirpados mediante mastectomía y se eliminaron las mamas ipsilaterales, más la mama craneal y caudal respecto a la mama afectada. Los ganglios linfáticos fueron escindidos cuando a la palpación denotaba adenomegalia (Withrow, 1975; Patsikas y Dessiris, 1996). La masa tumoral y los ganglios se fijaron en formol al 10%, se aplicaron procedimientos de rutina para estudios histopatológicos, y los tumores mamarios se clasificaron acorde a Hampe y col. (Hampe y Misdorp, 1974).

Las hembras se evaluaron clínicamente y por radiografías de tórax durante al menos 12 meses. La realizó un seguimiento trimestral, que consistió en la observación del estado general de la salud del animal, la palpación de la herida quirúrgica, ganglios linfáticos regionales, mamas y tejidos adyacentes. El diagnóstico de metástasis pulmonares se realizó

mediante radiografías del tórax. Se evaluó recurrencia local, recurrencia regional y diseminación a distancia, a fin de valorar la supervivencia libre de enfermedad. La supervivencia global se evaluó desde la cirugía hasta la muerte del animal. Se investigó también el eventual desarrollo de efectos colaterales, muy en especial en los días posteriores a la cirugía. Los tumores diagnosticados resultaron ser en su mayoría carcinomas simples o complejos, además de algunos sarcomas. Según datos preliminares, cerca de la mitad de los animales del grupo control mostraron progresión durante los primeros tres meses luego de la cirugía, mientras que más del 90% de las perras tratadas con DDAVP perioperatoria continuaban libres de enfermedad luego del mismo período (Ripoll y col., 2005). Tanto la supervivencia libre de progresión como la supervivencia global se estarían prolongando significativamente con el uso de DDAVP, luego de al menos 1 año de seguimiento de los animales.

Análisis de los mecanismos de acción antitumoral de la DDAVP

Desde hace más de cien años se ha reconocido una relación entre el sistema hemostático y las enfermedades tumorales malignas (Trousseau, 1865). Se describió un característico estado de hipercoagulación en portadores de cáncer, asociado a la capacidad de las células tumorales de producir directa o indirectamente la activación de la cascada de la coagulación, como también de activar o inhibir el proceso de fibrinólisis (Rickles y col., 2001). Así, tanto animales como seres humanos enfermos de cáncer pueden mostrar susceptibilidad para sufrir desórdenes tales como trombosis, embolismo pulmonar y coagulación intravascular diseminada, entre los más comunes (Loreto y col., 2000).

Un trabajo experimental reciente publicado por Terraube y col. (2006) demostró un incremento significativo del número de focos metastáticos en pulmón en ratones deficientes en FVW, comparados con ratones normales. Esta diferencia en el desarrollo de metástasis pudo ser corregida restaurando los niveles de plasmáticos de FVW. También encontraron una mayor supervivencia de las células tumorales en pulmón en ausencia de FVW, correlacionada con el mayor número de nódulos metastáticos pulmonares formados en esos animales. Este interesante hallazgo, sugiere fuertemente que el FVW juega un papel protector contra la diseminación tumoral *in vivo*, pudiendo dar un sustento directo a las propiedades antitumorales de la DDAVP, compuesto que es capaz de estimular la secreción de este factor desde reservas endoteliales.

No obstante, vale remarcar que los efectos biológicos de DDAVP sobre células endoteliales y tumorales se muestran complejos. La acción hemostática de DDAVP parece ser esencial para mejorar y acelerar el proceso de cicatrización postoperatorio. En este contexto, la recurrencia local y a distancia de

cáncer de mama podría deberse a la estimulación perioperatoria de células tumorales residuales (Reid y col., 1997). El período perioperatorio está también caracterizado por inmunosupresión y predispone a la diseminación tumoral (Vallejo y col., 2003). La administración de DDAVP perioperatoria podría ofrecer la oportunidad de modular tempranamente la injuria sobre el microambiente tisular y reducir la recurrencia locoregional de cáncer. El incremento de la coagulación después de los daños tisulares producidos por la cirugía podría contribuir a una rápida encapsulación de potenciales residuos tumorales, limitando la intravasación de células cancerosas. Es conocido que las moléculas proangiogénicas son producidas localmente en respuesta a daño tisular y cáncer. En pacientes con cáncer de mama se han detectado altas concentraciones de factores angiogénicos en fluidos quirúrgicos, por ello se estima que podrían ser bloqueados utilizando terapias locales o sistémicas perioperatorias (Hornbrey y col., 2003), como es el caso de la DDAVP. Otros agentes que previenen la pérdida de sangre han sido empleados durante cirugías oncológicas. La administración perioperatoria y postoperatoria de ácido tranexámico reduce las complicaciones en animales y en mujeres con cáncer de mama (Jong de y col., 1974; Oertli y col., 1994).

Por otra parte, se sabe que la DDAVP incrementa la fibrinólisis intravascular, pudiendo contribuir a disolver la fibrina de los émbolos de células tumorales circulantes y reducir la agregación de estas células (Alonso y col., 1999). Como se comentó, el depósito de fibrina alrededor de las células tumorales que ingresan al flujo sanguíneo mejora la supervivencia celular y la colonización del órgano blanco. En este sentido, en modelos murinos experimentales la implantación de células tumorales mamarias en sitios de traumatismo tisular pudo ser inhibido mediante la inyección de agentes profibrinolíticos, como estreptoquinasa y tPA recombinante (Murthy y col., 1991).

El efecto de la DDAVP parece ser ejercido en los estadios tempranos del proceso de diseminación, no solamente induciendo una rápida encapsulación de residuos tumorales y limitando la formación de émbolos intravasculares de células tumorales, sino también alterando la interacción de las células cancerosas con el endotelio (Fig. 2). Por ejemplo, la DDAVP podría modificar la adherencia de las células tumorales en los órganos blanco por alteración de la expresión de P-selectina sobre las células endoteliales (Kanwar y col., 1995) o plaquetas (Wun y col., 1995). También podría alterar la hemodinamia del flujo sanguíneo o inducir la lisis de las células tumorales a través de la producción de óxido nítrico a partir de la microvasculatura (Hirano y col., 1997). Tampoco es posible excluir potenciales efectos biológicos directos de la DDAVP sobre las células tumorales durante la intravasación y formación del foco metastático. Debe recordarse que se publicó que células de cáncer mamario y pulmonar contienen secuencias normales de los genes de todos los receptores de vasopresina y expresan los receptores V1a y V1b, y además formas normales y una forma anormal del receptor V2 (North, 2000).

Conclusiones y perspectivas

La DDAVP ha sido usada en animales con diabetes insipidus y con una amplia variedad de desórdenes sanguíneos. La DDAVP es un agente hemostático seguro y efectivo para usar en cirugías de animales con hemofilia o enfermedad de von Willebrand, y también en cirugías con abundante sangrado, como extracciones dentales, biopsias hepáticas y cortes de orejas (Johnson GS., y col., 1985; Johnson GS., y col., 1988; Meyers KM. y col., 1992; Dodds WJ, 1984). Las propiedades antitumorales de la DDAVP en modelos tumorales fueron comprobadas administrándola en forma endovenosa, en dosis cercanas a las utilizadas para obtener efecto antidiurético o hemostático. Nuestras observaciones en modelos experimentales y en un estudio clínico en caninos con tumores mamarios en estadios localmente avanzados, indican beneficios evidentes de la aplicación de DDAVP como adyuvante perioperatorio en cirugías oncológicas. El potencial efecto dual de la DDAVP, reduciendo la pérdida de sangre y limitando la recurrencia tumoral o la diseminación metastásica, fundamentan este potencial uso clínico. Las evidencias experimentales y resultados clínicos en caninos indican efectos antitumorales de la DDAVP en cáncer de mama, aunque son de esperar similares beneficios en otros tumores sólidos agresivos.

La manipulación quirúrgica y el trauma tisular incrementan el crecimiento y dispersión de algunos tipos de células cancerosas. Sin embargo, cuando el proceso reparativo es rápido y completo, el sitio quirúrgico se vuelve menos favorable para la implantación tumoral (Murthy y col., 1989). Luego de la cirugía, la recurrencia local de un tumor agresivo asociada a una progresión metastásica rápida, es más probable que dependa de una siembra perioperatoria de células tumorales, que de un fenómeno más tardío de recidiva local (Hornbrey y col., 2003).

En el futuro, seguramente se logrará una mejor comprensión de los complejos eventos biológicos que ocurren durante el período perioperatorio en pacientes con cáncer. Cualquiera sean los múltiples mecanismos de acción involucrados, las propiedades hemostáticas, profibrinolíticas y antitumorales de la DDAVP la erigen como una droga capaz de mejorar la hemostasia y el proceso reparativo luego de la cirugía y, al mismo tiempo, reducir la recurrencia o limitar la progresión de la enfermedad.

A diferencia de los quimioterápicos convencionales, en las dosis empleadas la DDAVP no posee efectos colaterales en el perro, y es un agente ya conocido respecto de sus perfil farmacológico, además de resultar seguro y práctico en su forma de aplicación (Papich, 2000). Las evidencias preliminares sobre el potencial uso clínico de la DDAVP durante el abordaje quirúrgico de los tumores caninos justifican la realización de ensayos más extensos y en distintas variantes tumorales. Se prevé que las estrategias terapéuticas perioperatorias conformen un área fructífera para la investigación en cáncer durante los próximos años.

Bibliografía

1. Abramow M.; Beauwens R.; Cogan E. (1987) Cellular events in vasopressin action. *Kidney Int* 32 (suppl 21):56-66.
2. Alonso DF.; Bertolesi GE.; Fariás EF.; Gomez DE.; Bal de Kier Joffé E. (1996) Inhibition of fibrinolysis by a synthetic urokinase inhibitor enhances lung colonization of metastatic murine mammary tumor cells. *Oncol Rep* 3: 1055-1058
3. Alonso DF.; Skilton G.; Farina HG.; De Lorenzo MS.; Gomez DE. (1997) Modulation of growth and urokinase secretion by vasopressin and closely related nonapeptides in metastatic mouse mammary tumor cells. *Int J Oncol* 10: 375-379.
4. Alonso DF.; Skilton, G.; Fariás EF.; Bal de Kier Joffe E.; Gomez D. (1999) Antimetastatic effect of desmopressin in a mouse mammary tumor model. *Breast Cancer Res Treat* 57: 271-275.
5. Authement JM.; Boudrieau RJ.; Kaplan PM. (1989) Transient traumatically induced central diabetes insipidus in dog. *JAVMA*. 194:683-685.
6. Bilzer T. (1991) Tumors of the hypophysis as a cause of both Cushing's syndrome and diabetes insipidus in dogs. *Tierärztliche Praxis* 19:276.
7. Brodey RS.; Goldschmidt MA.; Roszel JR. (1983) Canine mammary gland neoplasms. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 19:61-90.
8. Brooks M.; Dodds WJ.; Raymond SL. (1992) Epidemiologic features of von Willebrand disease in Doberman pinschers, Scottish terriers and Shetland sheep-dogs: 260 cases (1984-1988). *JAVMA* 200: 1123-1127.
9. Brown DC.; Purushotham AD.; Birnie GD.; George WD. (1995) Detection of intraoperative tumor cell dissemination in patients with breast cancer using reverse transcription and polymerase chain reaction. *Surgery* 117: 95-101.
10. Butler KD.; Dolan SL.; Talbot MD.; Wallis RB. (1993). Factor VIII and DDAVP reverse the effect of recombinant desulphato-hirudin (CGP 39393) on bleeding in the rat. *Blood Coagul Fibrinol* 4: 459-464.
11. Carter BA.; Jensen RA; Simpson JF.; Page DL. (2000) Benign transport of breast epithelium into axillary lymph nodes after biopsy. *Am J Clin Pathol* 113: 259-265.
12. Cattaneo M.; Harris AS.; Stromberg U.; Mannucci PM. (1995) The effect of desmopressin on reducing blood loss in cardiac surgery. A meta-analysis of double-blind, placebo-controlled trials. *Thromb Haemost* 74: 1064-1070.
13. Constantini V. y Zacharski LR. (1992) The role of fibrin in tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 11: 283-290.
14. Cotchin F. (1954) Further observations on neoplasias in dogs with particular reference to site of origin and malignancy. *Br. Vet. J.* 110: 218.
15. Davidson MG.; Nasisse MP.; Breitschwerdt EB.; Thrall DE.; Page RL.; Jamieson VE.; English RV. (1991) Acute blindness associated with intracranial tumors in dogs and cats: Eight cases (1984-1989) *JAVMA* 199:755-758.
16. Derkx FH.; Man in 't Veld AJ; Jones R.; Reid JL.; Schalekamp MA. (1983). DDAVP (1-desamino-8-D-arginine vasopressin): an antagonist of the pressor action of endogenous vasopressin? *J Hypertens Suppl.* 1: 58-61.

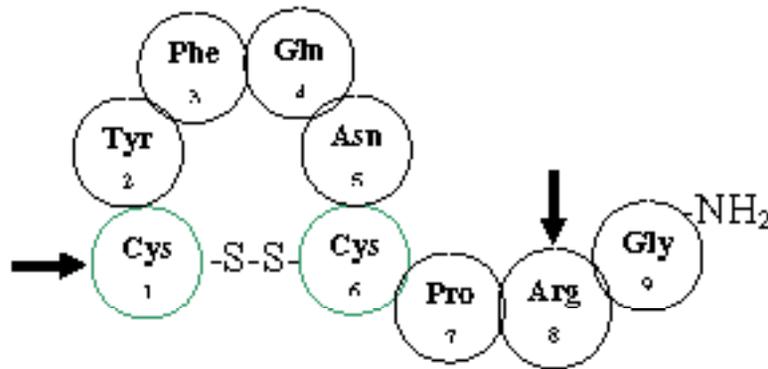


Fig. 1. Estructura del nanopéptido vasopresina. El análogo sintético DDAVP difiere de la hormona natural por la desaminación de la cisteína en posición 1 y la incorporación de D-arginina en la posición 8 (flechas).

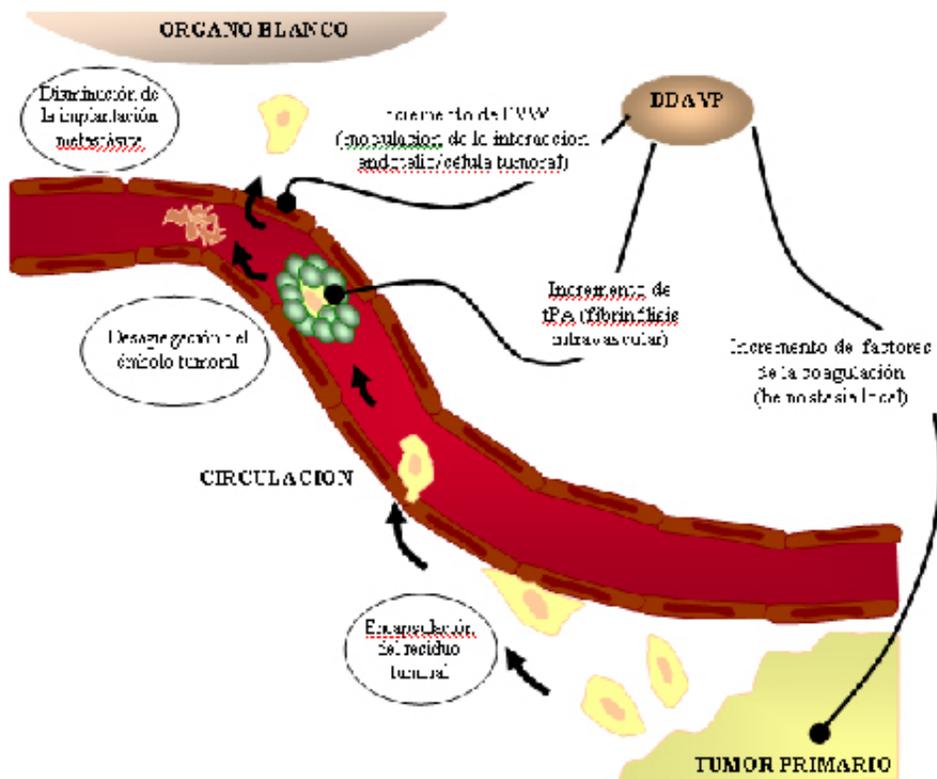


Fig. 2. Posibles mecanismos de acción antitumoral de la DDAVP. El incremento en los factores de coagulación luego del tratamiento con DDAVP durante la manipulación tumoral puede contribuir a una rápida encapsulación del residuo tumoral, limitando la intravasación de las células metastásicas. Asimismo, DDAVP incrementa la fibrinólisis, ayudando a disolver el coágulo de fibrina de las células cancerosas circulantes reduciendo la agregación celular, permitiendo su destrucción a través del sistema inmune. El aumento de los niveles del factor de von Willebrand (FVV) podría prevenir la diseminación metastásica, alterando la interacción de las células cancerosas con el endotelio en el órgano blanco.

Tabla I – Protocolo de tratamiento con DDAVP perioperatoria para cirugía oncológica.

Protocolo	Rango de dosis	Dosis sugerida	Vía
Perioperatorio			
30 min antes y 24 horas después de la cirugía	0,3 a 4 µg/kg	1 microg/kg	Endovenosa

17. Di Michele S.M; Ericson U.; Sillen JA.; Engel; Soderpalm B. (1998). The role of catecholamines in desmopressin induced locomotor stimulation. *J Neural Transm* 105: 1103-1115.
18. Dillon AR. y Boudreaux MK. (1988) Convined factors IX and XII deficiencies in a family of cats. *JAVMA* 193:833.
19. Dodds WJ. (1984) Von Willebrand's disease in dogs. *Mod Vet Pract* 65:681.
20. Dodds WJ. Hemostasis. (1989) En Kaneko JJ (ed): *Clinical biochemistry of domestic animal*. San Diego. Academic Press. 274-315.
21. Eckersley GN.; Geel JK.; Kriek NP (1991) A craniopharyngioma in a seven-year-old dog. *JS Afr Vet Assoc* 62:65-67.
22. Emmeis JJ.; Van den Eijnden-Schrauwen Y.; Van den Hoogen CM.; De Priester W.; Westmuckett A.; Lupu F. (1997). An endothelial storage granule for tissue-type plasminogen activator. *J Cell Biol*; 139: 245-56.
23. Ettinger SJ. ; Feldman EC. (1997) Enfermedad pituitaria hipotalamica. *Tratado de medicina interna veterinaria*. 4ta ed. Intermedica. 1724-1740.
24. Feldman EC y Nelson RW. (1987) Polydipsia and polyuria. *In* Feldman EC and Nelson RW (ed): *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Philadelphia. WB Saunders 1-28.
25. Ferguson RH. (1985) Canine mammary gland tumors. *Vet Clin. North Am Small Animal Pract.* 15: 501-511.
26. Fidler IJ. (1991) Cancer metastasis. *Br Med Bull* 47: 157-177.
27. Fidler IJ. (1997) Molecular Biology of Cancer: Invasion and Metastasis. En DeVita, *Cancer Principles & Practice of Oncology*. 5th Ed. Lippincott-Raven, 165-152.
28. Fogh JM y Fogh IT. (1998) Inherited coagulation disorders. *Vet Clin North Am. Small Anim Pract* 18:231.
29. Forrester S. (1992) Symposium on paraneoplastic disorders. *Vet. Med. Jan.* 26.
30. French TW.; Fox LE.; Randolph JF.; Dodds WJ. (1987) A bleeding disorder (von Willebrand disease) in a Himalaya cat. *JAVMA* 190:437.
31. Giger U y Dodds WJ. (1989) Effect of desmopressin in normal dogs and dogs with von Willebrand's disease. *Vet Clin Pathol* 18:39.
32. Giron S.; Tejera AM.; Ripoll GM.; Gomez DE.; Alonso DF. (2002) Desmopressin inhibits lung and lymph node metastasis in a mouse mammary carcinoma model of surgical manipulation. *J Surg Oncol* 81: 38-44.
33. Gobello C. y Corrada Y. (2001) Canine mammary tumors: An endocrine clinical approach. *J. Small Animal Pract* 23 (8): 705-708.
34. Gomez DE.; Skilton G.; Alonso DF.; Kazanietz MG. (1999) The role of protein kinase C and novel phorbol ester receptors in tumor cell invasion and metastasis. *Oncol Rep* 6: 1363-1370.
35. Grant MB.; Guay C.; Lottenberg R. (1988) Desmopressin stimulates parallel norepinephrine and tissue plasminogen activator release in normal subjects and patients with diabetes mellitus. *Thromb Haemost* 59: 269-272.
36. Grunbaum EG y Moritz A. (1991) The diagnosis of nephrogenic diabetes insipidus in the dog. *Tierarzliche Praxis* 19:539.
37. Gunji Y. y Gorelik G. (1998) Role of fibrin coagulation in protection of murine tumor cells from destruction by cytotoxic cells. *Cancer Res* 48: 5216-5221.
38. Hahn KA.; Richardson RC.; Knapp DW. (1992) Canine malignant mammary neoplasia: Biologic behavior, diagnosis, and treatment alternatives. *J Am Anim Hosp Assoc* 28:251-257.
39. Hampe JF. y Misdorp W. (1974) Tumours and dysplasias of the mammary gland. *Bull WHO.* 50:111-133.
40. Handagama P. (1986) Salicylate toxicity. En Kirk RW (ed): *Current veterinary therapy IX*. Philadelphia. WB Saunders. 524-527.
41. Hayoz D.; Weber R.; Pechere A.; Burnier M. y Brunner HR. (1997) Heterogeneous vascular response to vasopressin: radial artery versus forearm blood flow. *J Hypertens* 15: 35-41.
42. Hirano S. (1997) In vitro and in vivo cytotoxic effects of nitric oxide on metastatic cells. *Cancer Lett* 115:57-62.
43. Honn K. y Tang D. (1992) Adhesion molecules and tumor cell interaction with endothelium and subendotelial matrix. *Cancer Metas Rev.* 11: 353-375.
44. Hormbrey E.; Han C.; Roberts A.; McGrouther DA. y Harris AL. (2003) The relationship of human wound vascular endothelial growth factor (VEGF) after breast cancer surgery to circulating VEGF and angiogenesis. *Clin Cancer Res* 9: 4332-4339.
45. Jard S. (1985) Vasopressin receptors in diabetes insipidus. *In* Robinson AG and Czernichow P (eds): *Diabetes Insipidus*. Basel Karger. 89-104.
46. Johnson GS.; Schlink GT.; Fallon RK.; Moore CP. (1985) Hemorrhage from the cosmetic otoplasty of Doberman pinschers with von Willebrand 's disease. *Am J Vet res* 46:1335.
47. Johnson GS. (1998) Canine von Willebrand 's disease. A heterogeneous group of bleeding disorders. *Vet Clin North Am Sm Anim Pract* 18:195.
48. Johnson GS.; Kraus KH.; Turrentine MA.; Dean PW. (1986) DDAVP-induced increases in coagulation factor VIII and von Willebrand Factor in the plasma of conscious dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 9:370-375.
49. Johnston IB y Crane S. (1986) The effects of desmopressin on hemostatic parameters in the normal dog. *Can J Vet Res.* 50:265.
50. Johnston SD. (1993) Reproductive System (mammary neoplasia) *In*: Slatter DH (ed): *Textbook of small animal surgery*. Saunders, WB. Philadelphia. 2185-2192.
51. Johnstone IB y Crane S. (1987) The effects of desmopressin on plasma factor VIII / von Willebrand 's factor activity in dogs with von Willebrand 's disease. *Can J Vet Res* 51:189.
52. Jong de JC; Nelems JM; Smit Sibinga CT; Wildevuur CR. (1974) The influence of tranexamic acid on thrombocytopenia caused by artificial surfaces. *Trans Am Soc Artif Intern Organs.* 20 B:596-603.
53. Kanwar S.; Woodman RC.; Poon MC.; Murohara T.; Lefer AM.; Davenpeck KL.; y Kubes P. (1995) Desmopressin induces endothelial P-selectin expression and leukocyte rolling in post-capillary venules. *Blood* 86: 2760-2766.
54. Karayannopoulou M.; Kaldrymidou E.; Constantinidis TC.; Dessiris A. Adjuvant post-operative chemotherapy in bitches

- with mammary cancer. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2001 Mar;48(2):85-96.
55. Kaufmann JE. y Vischer UM. (2003a) Cellular mechanisms of the hemostatic effects of desmopressin (DDAVP). *J Thromb Haemos 1*: 682-689.
56. Kaufmann JE.; Iezzi M.; Vischer UM. (2003b) Desmopressin (DDAVP) induces NO production in human endothelial cells via V2 receptor- and cAMP-mediating signalling. *J Thromb Haemos 1*: 821-828.
57. Keck T.; Banafsche R.; Werner J. (2001) Desmopressin impairs microcirculation in donor pancreas and early graft function after experimental pancreas transplantation. *Transplantation* 72:202-209.
58. Kitchell BE. (1995) Mammary tumors. En: Bonagura JD (ed). *Kirk's Current Veterinary Therapy XII*. Philadelphia, WB Saunders. 1098-1102.
59. Krause KH. (1986) The use the desmopressin in diagnosis and treatment of diabetes insipidus in cats. *Comp Contin. Ed* 9:752.
60. Kraus KH.; Turrentine MA.; Johnson GS. (1987) Multimeric analysis of von Willebrand factor before and after desmopressin acetate (DDAVP) was administered intravenously and subcutaneously in male beagle dogs. *Am J Vet Res* 48: 1376-1379.
61. Lee SW.; Gleason NR.; Bessler M.; Whelan RL. (2000) Port site recurrence rates in a murine model of laparoscopic splenectomy decreased with increased experience. *Surg Endosc* 14: 805-811.
62. Lens XM.; Caasals J.; Oliva JA.; Pascual R.; Carrió J.; Mallafré JM. (1988). Trastornos de la coagulación en la insuficiencia renal: modificaciones por la desamino-8-D-arginina vasopresina. *Med Clin (Barc)* 90: 603-606.
63. Littlewood JD y Evans RJ. (1990) A combined deficiency of factor VIII and contact activation defect in a family of cats. *Br Vet J* 146:30.
64. Liotta LA. (1986) Tumor invasion and metastasis-role of extracellular matrix. *Cancer Res* 46: 1-7.
65. Loboda VI. y Grinevich IA. (1982) Sinus histiocytosis of the regional lymph nodes as an indicator of antitumor resistance in breast cancer. *Arkh Patol* 44:45-49.
66. Loreto MF.; De Martinis M.; Corsi MP.; Modesti M.; Ginaldi L. (2000) Coagulation and cancer: implications for diagnosis and management. *Pathol Oncol Res.*6(4):301-312.
67. Lumsden JH. (1993) Prevalence of hypothyroidism and von Willebrand 's disease in Doberman pinscher and the observed relationship between thyroid, von Willebrand, and cardiacus status. *J Vet Intern Med* 7:115.
68. Mannucci PM.; Vicente V.; Vianello L.; Cattaneo M.; Alberca I.; Coccato MP.; Faioni E.; Mari D. (1986). Controlled trial of desmopressin (DDAVP) in liver cirrosis and other conditions associated with prolonged bleeding time. *Blood* 67: 1148-1153.
69. MC Ewen EG. y Withrow SJ. (1996) Tumors of the mammary glands. En: Withrow, S.J.; Mc Ewen, E.G (eds), *Small Animal Clinical Oncology 2nd ed*, WB Saunders, Philadelphia. 356-372.
70. McEver RP.; Beckstead JH.; Moore KL.; Marshall-Carlson L.; Bainton DF. (1989) GMP-140, a platelet alpha-granule membrane protein, is also synthesized by vascular endothelial cells and is localized in Weibel-Palade bodies. *J Clin Invest* 84: 92-99.
71. Meyers KM. (1992) Canine von Willebrand's disease: Pathobiology, diagnosis, and short-term treatment. *Comp Contin Ed* 14:13.
72. Moore KH.; Thaler HT.; Tan LK.; Borgen PI.; Cody HS. (2004) Immunohistochemically detected tumor cells in the sentinel lymph nodes of patients with breast carcinoma: biologic metastasis or procedural artifact? *Cancer* 100: 929-934.
73. Morel F.; Imbert-Teboul M.; Chabardes D. (1987) Receptors to vasopressin and other hormones in the mammalian kidney. *Kidney Int* 32:512-520.
74. Morris JS.; Dadson JM.; Bostock DE. (1993) Use of tamoxifen in control of canine mammary neoplasia. *Vet Rec* 133: 539-542.
75. Moulton JE. Tumors of the mammary gland (1990) En: *Tumours in Domestic Animals, 3rd eds*. Ed. Moulton JE. University of California Press, Berkeley. 518-552.
76. Murtaugh RJ. y Dodds WJ. (1998) Hemophilia A in a female dog. *JAVMA* 193: 351.
77. Murthy MS.; Goldschmidt RA.; Rao LN.; Ammirati M.; Buchmann T.; Scanlon EF. (1989) The influence of surgical trauma on experimental metastasis. *Cancer* 64: 2035-2044.
78. Murthy MS.; Scanlon EF.; Reid SE.; Xang XF. (1996) Pre-, peri-, and postoperative chemotherapy for breast cancer: Is one better than the other? *J Surg Oncol* 61: 273-277.
79. Murthy MS.; Summaria LJ.; Miller RJ.; Wyse TB.; Goldschmidt RA.; Scanlon EF. (1991). Inhibition of tumor implantation sites of trauma by plasminogen activators. *Cancer* 68: 1724-1730.
80. Mutter D.; Hajri A.; Tasseti V.; Solis-Caxaj C.; Aprahamian M.; Marescaux J. (1999). Increased tumor growth and spread after laparoscopy vs laparotomy: Influence of tumor manipulation in a rat model. *Surg Endosc* 13: 365-370.
81. Nelson RW.; Ihle SL.; Feldman EC. (1989) Pituitary macroadenomas and macroadenocarcinomas in dogs treated with mitotane for pituitary dependent hyperadrenocorticism: 13 cases (1981-1986). *JAVMA* 194:1612-1617.
82. Nichols R. (1989) Diabetes Insipidus. In Kirk RW (ed): *Current Veterinary Therapy X*. Philadelphia. WB Saunder. 973-978.
83. North WG. (1987) Biosynthesis of vasopressin and neurophysins. In: *Vasopressin: Principles and properties*. D.M. Gash and G.J. Boer (eds). Plenum Press, New York, pp175-209.
84. North WG. (2000) Gene regulation of vasopressin and vasopressin receptors in cancer. *Exp Physiol* 85: 27S-40S.
85. Oertli D.; Laffer U.; Haberthuer F.; Kreuter U.; Harder F. (1994) Perioperative and postoperative tranexamic acid reduces the local wound complication rate after surgery for breast cancer. *Br J Surg* 81: 856-859.
86. Ogilvie GK.; Reynolds HA.; Richardson RC.; Withrow SJ.; Morris AM.; Henderson RA.; Klausner JS.; Fowler JD.; Mc Caw D. (1989) Phase 2 evaluation of doxorubicin for treat-

- ment of various canine neoplasms. *J Am Vet Med Assoc.* 195 (11):1580-1583.
87. Otto CM.; Dodds WJ.; Greene CE. (1991) Factor XII and partial prekallikrein deficiencies in a dog with recurrent gastrointestinal hemorrhage. *JAVMA* 198: 128-131.
88. Panis Y.; Ribeiro J.; Chrétien Y.; Nordlinger B. (1992) Dormant liver metastases: an experimental study. *Br J Surg* 79: 221-223.
89. Papich MG. (2000) Table of common drugs: approximate dosages In: Bonagura JD (ed) *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII. Small Animal Practice.* Saunders, WB. Philadelphia. 1241-1264.
90. Patsikas MN. y Dessiris AK. (1996) The lymph drainage of the mammary glands in the bitch: a lymphographic study. *Anat. Histol. Embryol.* 25, 131-143.
91. Pereira A.; Del Valle Honorato M.; Sanz C. (2003) DDAVP enhances the ability of blood monocytes to form rosettes with activated platelets by increasing the expression of P-selectin sialylated ligands on the monocyte surface. *Br J Haematol* 120: 814-820.
92. Petit T.; Davidson KK.; Lawrence RA.; von Hoff DD; Izbicka E. (2001). Neuropeptide receptor status in human tumor cell lines. *Anticancer Drugs* 12: 133-136.
93. Post K. y col. (1989) Congenital central diabetes insipidus in two sibling Afghan pups. *JAVMA* 194:1086.
94. Randolph JF.; Center SA.; Dodds WJ. (1986) Factor XII deficiency and von Willebrand disease in a family of miniature poodle dogs. *Cornell Vet* 76:3-10.
95. Raymond SL, Jones DW, Brooks MB, Dodds WJ. (1990) Clinical and laboratory features of a severe form of von Willebrand's disease in Shetland sheepdogs. *JAVMA.* 197:1342-1346.
96. Reid SE.; Kaufman MW.; Murthy S.; Scanlon EF. (1997) Perioperative stimulation of residual cancer cells promotes local and distant recurrence of breast cancer. *J Am Coll Surg* 185: 290-306.
97. Richardson DW. y Robinson AG. (1985) Desmopressin. *Ann Intern Med* 103: 228-239.
98. Rickles FR.; Shoji M.; Abe K. (2001) The role of the hemostatic system in tumor growth, metastasis, and angiogenesis: tissue factor is a bifunctional molecule capable of inducing both fibrin deposition and angiogenesis in cancer. *Int J Hematol.* 73(2):145-150.
99. Ripoll GV.; Girón G.; Tejera AM.; Gomez DE.; Alonso DF. (2004) La desmopresina (DDAVP) modifica la producción de angiostatina y reduce la angiogénesis inducida por células tumorales mamarias. *Medicina (Buenos Aires)* 64 (Supl. 2): 364.
100. Ripoll GV.; Hermo G.; Torres P.; Gobello C.; Gomez DE.; Alonso DF. (2005) Evaluación de la desmopresina (DDAVP) perioperatoria en caninos con tumores mamarios espontáneos. *Medicina (Buenos Aires)* 65 (Supl. 2): 73-74.
101. Robeason GL. (1988) Differential diagnosis of polyuria. *Annu Rev Med* 39: 425.
102. Robertson GL. (1984) Abnormalities of thirst regulation. *Kidney Int* 25: 460.
103. Rodeghiero F.; Castaman G.; Manucci PM. (1991) Clinical indications for desmopressin (DDAVP) in congenital and acquired von Willebrand disease. *Blood Rev* 5: 155-161.
104. Sabbatini RF.; Morselli M.; Depenni M.; Cagossi R.; Luppi K.; Torelli M.; Silingardi G. (2000) Detection of circulating tumor cells by reverse transcriptase polymerase chain reaction of maspin in patients with breast cancer undergoing conventional-dose chemotherapy. *J Clin Oncol* 18: 3196-3197.
105. Tefferi A. y Nichols WL. (1997) Acquired von Willebrand disease: concise review of occurrence, diagnosis, pathogenesis, and treatment. *Am J Med* 103: 536-540.
106. Terraube V.; Pendu R.; Baruch D.; Gebbink MF.; Meyer D.; Lenting PJ.; Denis CV. (2006) Increased metastatic potential of tumor cells in von Willebrand factor-deficient mice. *J Thromb Haemost.* 4(3):519-26.
107. Thorgeirsson UP.; Lindsay CK.; Cottam DW.; Gomez DE. (1994) Tumor invasion, proteolysis and angiogenesis. *J Neuro Oncol* 18: 89-103.
108. Topal B.; Roskams T.; Fevery J.; Penninckx F. (2003) Aggregated colon cancer cells have a higher metastatic efficiency in the liver compared with non-aggregated cells: an experimental study. *J Surg Res* 112: 31-37.
109. Trouseau A. (1865) Phlegmasia alba dolens. En: *Clinique Medicale de l'hotel Dieu de Paris* 3. Paris, France; JB Baillieri et Fils 654-712.
110. Vallejo R.; Hord ED.; Barna SA.; Palma JS.; Ahmed S. (2003) Perioperative immunosuppression in cancer patients. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 22: 93-100.
111. Vicente V.; Laso J.; Alberca I.; Moraleda J.; Estelles A.; Aznar J. (1991). Repeated infusions of DDAVP induce low response of VIII:C and vW:F but not of plasminogen activators (tPA and u-PA). *Thromb Haemost* 65: 977.
112. Wall U.; Jern S.; Tengborn L.; Jern C. (1998) Evidence of a local mechanism for desmopressin-induced tissue-type plasminogen activator release in human forearm. *Blood* 91: 529-537.
113. Weiss L.; Mayhew E.; Rapp DG.; Holmes JC. (1982) Metastatic inefficiency in mice bearing B16 melanomas. *Br. J. Cancer* 45:55.
114. Weiss L.; Ward PM.; Holmes JC. (1983). Liver to lung traffic of cancer cells. *Int. J Cancer* 32: 79.
115. White B.; Lawler P.; Riddell A.; Nitu-Whalley IC.; Hermans C.; Lee CA.; Brown SA. Response to desmopressin of factors XI, X and V in patients with factor VIII deficiency and von Willebrand disease. *Br J Haematol.* 2004 Jul;126(1):100-104.
116. Withrow, S. (1975). Surgical management of canine mammary tumors. *Vet Clin N Am Small Anim. Pract.* 5 (3) 495-501.
117. Wun T.; Paglieroni TG.; Lachant NH. (1995) Desmopressin stimulates the expression of P-selectin on human platelets in vitro. *J Lab Clin Med* 126: 401-409.
118. Yasui M.; Zelenin SM.; Celsi G.; Aperia A. Adenylate cyclase-coupled vasopressin receptor activates AQP2 promoter via a dual effect on CRE and AP1 elements. *Am J Physiol.* 1997 Apr;272(4 Pt 2):F443-450.
119. Zaoral M.; Kole J.; Sorm F. (1967). Synthesis of 1-deamino-8-D-amino-butyrine vasopressin, 1-deamino-8-D-lysine

PARTICULARIDADES DEL CICLO ESTRAL CANINO. ASPECTOS CLÍNICOS Y ENDOCRINOLÓGICOS

ESTROUS CYCLE FEATURES IN THE BITCH. CLINICAL AND ENDOCRINOLOGICAL ASPECTS

Stornelli MC^{1,4}, Savignone CA³, Gimenez F¹,
Tittarelli CM², de la Sota RL¹,
Stornelli MA^{1*}

Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad Nacional de La Plata.

Resumen

Si se compara a los caninos con otros animales domésticos, se puede observar que la perra posee varias características reproductivas que la distinguen de otras especies. La perra es monoéstrica no estacional, posee un intervalo interestral de entre 5 y 12 meses. El período de proestro y el comportamiento de estro es prolongado y variable. La ovulación ocurre dos días después del pico de LH. La perra, ovula ovocitos primarios que tardarán 2 o 3 días en madurar en el oviducto momento en el cual podrán ser fecundados. El conocimiento de la fisiología y endocrinología reproductiva canina hace posible un adecuado manejo del ciclo estral así como del diagnóstico y tratamiento de las enfermedades reproductivas. En este trabajo se discuten la estructura y función de las hormonas hipofisarias y gonadales así como las particularidades del ciclo estral canino.

Abstract

Reproductive activity in the bitch differs from the pattern of other species. There does not appear to be any seasonal effect on reproductive function since there is a fairly even distribution of the occurrence of oestrus throughout the year. The interestrous interval normally varies from 5 to 12 months in duration, with 7 being the average. The duration of pro-estrus and oestrus is about 18 days. However, this can be very variable. Ovulation of infertile primary oocytes occurs 2 days after the LH surge, with oocyte maturation occurring over the following 1 to 3 days. The knowledge of reproductive physiology and endocrinology are necessary for the management of the oestrus cycle. Hormone structure and function likewise reproductive features of the bitch are reviewed.

Palabras clave endocrinología, perra, ciclo estral.

Key Words endocrinology, bitch, oestrus cycle.

Instituto de Teriogenología¹, Cátedra de Fisiología², Cátedra de Histología y Embriología³, Laboratorio Central⁴, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. B1900AVW. La Plata. Argentina
Corresponding author: Tel +54-221-4236663/4, ext 457, fax: +54-221-4257980. Instituto de Teriogenología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Calle 60 y 118. B1900AVW La Plata. Buenos Aires. Argentina.
E-mail: astornel@fcv.unlp.edu.ar (Stornelli, MA)
This study was supported in part by a UNLP grant V11/134 to RLS.

Introducción

El completo conocimiento y comprensión de la fisiología reproductiva de la perra así como de la estructura y función de las hormonas que participan en el ciclo reproductivo canino, son necesarios para realizar un adecuado manejo de los servicios, inducción o prevención de ciclos estrales, así como para aproximar el diagnóstico e instaurar el tratamiento de las diversas enfermedades que pueden afectar el aparato reproductor y la fertilidad. La observación de los signos clínicos y cambios en la imagen citológica y vaginoscópica presentes en las distintas fases del ciclo estral permiten caracterizar al mismo así como realizar una aproximación diagnóstica racional. Del mismo modo el conocimiento de la estructura, mecanismo de acción y función de las hormonas hipofisarias y gonadales, nos permitirá una mejor comprensión de las variaciones hormonales del ciclo estral canino así como de las posibilidades de manejo del mismo.

Hormonas de la Adenohipófisis

La adenohipófisis produce tres hormonas de importancia en la reproducción de la hembra: FSH, LH y PRL. La FSH y LH poseen restos de carbohidratos y junto con la hormona tirotrópica, forman un grupo de hormonas hipofisarias clasificado como glucoproteicas. Todas las hormonas hipofisarias poseen dos subunidades unidas en forma no covalente. En una misma especie, las subunidades α para todas las hormonas glucoproteicas son idénticas, mientras que las β son diferentes en el contenido de aminoácidos y carbohidratos, lo que confiere especificidad de acción a la hormona. La función principal de la FSH es estimular el crecimiento de los folículos antrales. La LH es necesaria para el proceso ovulatorio y para la luteinización de la granulosa lo que resulta en la formación del cuerpo lúteo. Las acciones de las hormonas FSH y LH son sinérgicas (17).

La prolactina tiene características atávicas comunes con la hormona del crecimiento. En los mamíferos las funciones más importantes de la prolactina se relacionan con el desarrollo del tejido secretor de la glándula mamaria y el mantenimiento de la lactación. En algunas especies como en la perra esta hormona es luteotrófica.

El mecanismo de acción de las hormonas proteínicas se desarrolla, mediante la unión a receptores específicos ubicados en la superficie de las células blanco, esto contrasta con la unión a receptores citoplasmáticos de las hormonas esteroideas. Cuando ocurre la unión de la hormona proteínica con el receptor, la enzima adenilato ciclasa se activa para convertir el trifosfato de adenosina (ATP) en el nucleótido monofosfato de adenosina (3,5-AMP), el AMP cíclico (AMPc, el segundo mensajero) que activa a las proteinquinasa intracelulares. Estas quinasa activan los sistemas enzimáticos que determinan el efecto de la hormona. Por ejemplo la LH causa la síntesis de una proteína inductora y como resultado, las mitocondrias producen progesterona (37).

El control hipotalámico de la secreción de la adenohipófisis está a cargo de hormonas peptídicas pequeñas que se liberan en la eminencia media y se transportan hacia la adenohipófisis por medio de un sistema portal de irrigación. La liberación de FSH y LH está controlada por un péptido de 10 aminoácidos denominado GnRH. Por lo tanto existen básicamente dos formas de influenciar la secreción de gonadotropinas. Una es variar la frecuencia o amplitud de los pulsos de liberación de GnRH ya que se ha demostrado que la liberación pulsátil de la misma es esencial para mantener la secreción de LH y FSH por la adenohipófisis. Otra es cambiar la sensibilidad de la adenohipófisis a los pulsos de GnRH, por medio de los efectos moduladores de estrógenos y progesterona. El incremento de las concentraciones de estrógeno aumenta la sensibilidad a la GnRH y aumenta la liberación de gonadotropinas; la progesterona posee el efecto opuesto.

Es muy interesante la manera contrastante en que los estrógenos afectan la liberación de gonadotropinas. El 17 β -estradiol causa un efecto de retroalimentación positiva con la consiguiente liberación de una oleada de gonadotropinas en respuesta a concentraciones de estrógeno que aumentan gradualmente. En contraposición la retroalimentación negativa requiere la exposición a concentraciones de estrógeno basales o mínimas y de corta duración.

Por otra parte el control de la secreción de PRL se relaciona con la inhibición de la secreción mediante factores hipotalámicos. La dopamina, una catecolamina, es un factor inhibidor de la prolactina. La dopamina es liberada por las neuronas en la eminencia media y es transportada por el sistema portal hipofisario hacia adenohipófisis. Es así que la disminución de la síntesis de dopamina aumenta la liberación de PRL. La PRL también se libera en forma pulsátil, posiblemente a causa del aumento y disminución del factor inhibidor (17).

Hormonas Gonadales

Los tipos principales de hormonas esteroideas que participan en los procesos de la reproducción de la hembra son los pregnanos y los estranos. El pregnano más importante es la progesterona, la cual es producida por el cuerpo lúteo, la placenta y la corteza adrenal. La síntesis de progesterona que realiza el cuerpo lúteo está controlada por la LH.

Los principales estranos son la estrona y el E_2 . El estriol, otro estrógeno importante, se encuentra solo en los primates durante la gestación. Los sitios de producción de estrógenos son el ovario (células de la granulosa de los folículos ováricos), la unidad fetoplacentaria y la corteza adrenal. La FSH controla la síntesis estrogénica de los folículos ováricos y actúa sobre las células de la granulosa. La LH también actúa sobre la síntesis de estrógenos ya que controla la producción de la molécula precursora esencial (testosterona) por las células de la teca interna. Las hormonas esteroideas son liposolubles y se unen para su transporte a proteínas plasmáticas como por ejemplo la globulina fijadora de hormonas sexuales que posee gran afinidad por los estrógenos. Las proteínas que se unen a esteroideas con mucha

afinidad poseen poca capacidad de transporte. Por otro lado, la albúmina, que es una proteína con poca afinidad de unión por los esteroides, es un vehículo de transporte importante debido a su gran concentración en el plasma. Menos del 5% de las hormonas esteroides permanecen en forma libre. Para realizar su función estas hormonas se unen a receptores específicos citoplasmáticos y este complejo se transfiere al núcleo donde se une a sitios específicos de la cromatina (37).

Los estrógenos poseen diferentes acciones: estimulan el crecimiento de las glándulas endometriales (necesario para el mantenimiento del cigoto antes de la implantación), estimulan el crecimiento de los conductos de la glándula mamaria, causan actividad secretora en el oviducto (lo que favorece la supervivencia de óvulo y espermatozoide), regulan la secreción de gonadotrofinas, pueden ser los causantes de la liberación de PGF por el útero grávido y no grávido, detienen el crecimiento de los huesos largos al iniciar el cierre de la placa epifisaria de crecimiento y favorecen el anabolismo proteínico (24).

Por otro lado las acciones de la P_4 incluyen: estímulo del crecimiento de las glándulas endometriales, estímulo del crecimiento lóbulo-alveolar de la glándula mamaria, estímulo de la actividad secretora del oviducto y de las glándulas endometriales, estímulo de la conducta de estro en algunas especies (oveja y perra) en coordinación con el estrógeno, prevención de la contractilidad del útero durante la gestación y regulación de la secreción de gonadotrofinas. Es importante considerar que las acciones de la P_4 ocurren a menudo en sinergia con el estrógeno y muchas veces requieren la acción previa del mismo (33, 37).

Ciclo Estral

El conocimiento del mecanismo de acción de las hormonas hipofisarias y gonadales es esencial para la comprensión de las particularidades del ciclo estral de la perra doméstica.

La fisiología reproductiva particular de la perra doméstica hace necesario un acabado conocimiento del ciclo estral y del período periovulatorio para poder realizar un correcto manejo reproductivo, una adecuada implementación de la inseminación artificial así como el diagnóstico y tratamiento de enfermedades relacionadas con la reproducción (9). Estos hechos han impulsado a los investigadores a estudiar extensamente la biología reproductiva de la hembra canina en los últimos años (6, 22, 26).

Si se compara a los caninos con otros animales domésticos, se puede observar que la perra posee varias características reproductivas que la distinguen de otras especies. La perra es monoéstrica con escasa o nula estacionalidad. Luego de la ocurrencia del ciclo estral se produce un período de anestro de duración variable lo que da como resultado un intervalo entre los ciclos que puede oscilar entre 5 y 12 meses. El período de proestro y comportamiento de estro es prolongado y variable (3- 20 días), el inicio del comportamiento de estro puede ser tan temprano como 5 días antes de la ovulación o tan tardío

como 3 días después. La ovulación ocurre dos días después del pico de LH. La hembra canina, a diferencia de otras especies, ovula ovocitos primarios que tardarán 2 o 3 días en madurar en el oviducto momento en el cual podrán ser fecundados es decir aproximadamente 4 días después del pico preovulatorio de LH.

Como se mencionó anteriormente, la perra puede clasificarse como monoéstrica no estacional lo cual significa que solo ocurrirá un estro por ciclo y que el mismo no es estacional ya que la perra podrá ciclar en cualquier momento independientemente de la estación (35). Esto da como resultado la ocurrencia de camadas a lo largo de todo el año. Algunos autores discuten un aumento estacional de la actividad sexual en correlación a lo que ocurre en otros cánidos como el zorro, el coyote, el perro salvaje y el perro basenji africano, que ciclarán solo una vez por año y la estación reproductiva dependerá del hemisferio en el que habiten (16, 20). La actividad sexual estacional ligeramente aumentada durante el período primavera-verano podría ser el resultado de algunos elementos ambientales que estimulan el eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Sin embargo al estudiar las estaciones de cría puede observarse que en las mismas las pariciones dependen de factores genéticos y de manejo, ya que existe una preferencia de los criadores para que las camadas nazcan cuando mejoran las condiciones ambientales, relacionándose también con las preferencias que establece el mercado de venta de cachorros. Es así que los picos de parición tienden a ocurrir hacia fines del año (diciembre) en las regiones cálidas, mientras que son más tempranos (julio) en las regiones frías. Es por todo esto que para evaluar los patrones estacionales del ciclo estral de la perra se debe considerar la compleja interacción de factores genéticos, climáticos y de manejo (13). En relación a lo anteriormente discutido diferentes estudios realizados han demostrado que el medio ambiente, puede influir en la estacionalidad del ciclo estral, pero que esta influencia es escasa en la perra doméstica. Diversos trabajos donde se evaluaron varios criaderos demostraron que los nacimientos de cachorros ocurren en todos los meses del año (15).

La pubertad puede definirse como el momento a partir del cual un individuo es capaz de reproducirse. En la perra la pubertad puede reconocerse por el comienzo del primer proestro. El inicio de la pubertad se correlaciona con el momento en que la perra alcanza la talla de adulto. Por lo tanto puede ocurrir entre los 6 y 10 meses en las perras de talla pequeña, mientras que en las de talla grande puede demorarse hasta aproximadamente los dos años (35). La madurez sexual o máxima capacidad reproductiva puede no ser alcanzada hasta el segundo, tercer o cuarto celo (13, 21). La duración y las características del proestro y el estro pueden diferir entre las perras púberes y maduras. Es probable que las perras púberes demuestren menos su comportamiento de estro durante la ovulación y la duración del proestro y el estro puede ser menor (39). Así mismo se ha reportado que en algunos ciclos de perras púberes, los patrones de estradiol- 17β , hormona luteinizante (LH) y progesterona fueron irregulares (21). Por otra parte las perras púberes

pueden más frecuentemente manifestar un celo fragmentado, durante el cual la hembra mostrará algunos signos verdaderos de proestro-estro, como descarga vulvar serosanguinolenta, edema vulvar atracción del macho y en algunos casos pueden ser receptivas. Sin embargo a los pocos días los signos regresan hasta que el estro verdadero comienza luego de varios días o semanas. No ocurrirá la ovulación durante la primer mitad o falso celo, pero si en la segunda mitad o celo verdadero, y si se le da servicio en el momento adecuado puede ocurrir concepción (13). Las perras púberes, más frecuentemente que las adultas, mostrarán celos silentes, durante los cuales ocurrirá ovulación pero en ausencia de comportamiento o signos clínicos notables de proestro-estro (21).

Hace más de 100 años Heape describió los estadios clásicos del ciclo estral canino. Sin embargo como este hecho fue anterior a la comprensión de los mecanismos hormonales, dicha clasificación solo se basó en la fisiología y comportamiento sexual de la hembra canina (18). En la actualidad el ciclo reproductivo de la perra doméstica (*canis familiares*), puede describirse en base a los cambios de comportamiento, clínicos, fisiológicos, citológicos y endocrinológicos ocurridos en ella. El mismo incluye cuatro estadios: proestro, estro, diestro y anestro. La duración del intervalo interestral es variable pudiendo oscilar entre 4 a 10 meses con un promedio de 7 meses. Existen diferencias entre perras de una misma raza y entre diferentes razas (35). Si bien las hembras de talla pequeña tienden a tener más ciclos estrales por año que las de talla grande, esto no siempre ocurre, ya que el ovejero alemán tendrá más ciclos estrales por año que el Boston Terrier (21, 36). Los intervalos interestrales más frecuentes que cada 4 meses se asocian con infertilidad y los que demoran más de 11 meses con subfertilidad. Las excepciones al intervalo interestral normal de 4 a 11 meses son las razas caninas africanas como el Basenji que ciclan una vez por año (13). La heredabilidad del intervalo interestral ha sido estimada en un 35% (21).

Como se mencionó anteriormente el ciclo reproductivo canino puede dividirse en cuatro estadios (proestro, estro, diestro y anestro) los cuales describiremos a continuación.

Proestro

El proestro ha sido definido clínicamente como el estadio del ciclo estral en el que son fácilmente reconocidos en la hembra cambios externos (vulva edematosa y turgente, con descarga serosanguinolenta de origen uterino) que indican la proximidad del estro (21). Este estadio habitualmente se extiende desde la primera observación de sangrado hasta que la perra acepta al macho (13). En las perras maduras, la duración promedio es de 9 días con un rango de 0 a 27 días (2).

Signos clínicos

Durante el proestro, la perra usualmente atrae al macho

pero no está receptiva, de manera que no permite el servicio. En el proestro temprano, la hembra desalienta activamente todo intento de cópula por parte del macho, puede reaccionar gruñendo, mostrando los dientes, tirando dentelladas y manteniendo la cola pegada contra el periné, entre los miembros posteriores cubriendo la vulva (10). Este patrón de conducta cambia gradualmente a medida que avanza el proestro y la perra se torna más pasiva en su resistencia a la aproximación del macho. La hembra se vuelve más juguetona pero responderá gruñendo cuando el macho intente acercarse a sus cuartos traseros o se sentará para impedir el servicio. El macho será atraído por la presencia de feromonas en la descarga vulvar, la secreción de los sacos anales y la orina (13).

El proestro en general pero no siempre está asociado a cantidades variables de secreción vaginal sanguinolenta que proviene del útero y pasa a través del cuello uterino ligeramente relajado hacia la bóveda vaginal. Esta hemorragia es el resultado de la diapédesis y ruptura capilar subepitelial dentro del endometrio (12). El sangrado varía de perra a perra, siendo también variable la respuesta del animal ya que algunas perras se higienizarán más que otras, por lo cual será más dificultoso detectar el comienzo del proestro, a esto se añade en algunas razas como el collie la presencia de pelo largo y cola caída (13). En ocasiones una secreción mucoide parduzca puede observarse antes del sangrado verdadero y tumefacción vulvar, algunas hembras cesan el sangrado a medida que avanzan hacia el estro mientras que en otras la secreción se decolora y se torna transparente (10).

A medida que avanza el proestro, la vulva se agranda y esto está asociado al edema y tumefacción de los labios vulvares. En el proestro tardío la vulva estará hinchada y turgente para luego ablandarse de manera notable en el estro (13). Ya hacia el final del proestro pueden ser observados tres reflejos sexuales: 1) inclinación hacia arriba o "guiñe" de la vulva en respuesta a la fricción de la piel inmediatamente dorsal a la vulva. 2) curvatura ipsilateral de los miembros posteriores en respuesta a golpes suaves en la piel a la derecha o izquierda de la vulva. 3) Desviación contralateral o vertical de la cola en respuesta a golpes suaves en la piel a cada lado de vulva. Estos reflejos sexuales están ausentes en el anestro, aparecen y se incrementan durante el proestro tardío y alcanzan su pico máximo de expresión durante el estro temprano y medio (1).

Hallazgos en la vaginoscopia

La observación macroscópica de la mucosa de la vagina mediante vaginoscopia permite observar que en el proestro temprano, la mucosa se torna edematosa, gruesa, de color rosa pálido, con pliegues redondeados, de borde liso que llenan la luz vaginal. El fluido uterino, a veces abundante es claro y de color rojo brillante. A medida que avanza el proestro los pliegues se tornan más turgentes e hiperémicos, mientras que el fluido observado puede mantener la cuantía del proestro temprano y medio o disminuir (12).

Modificaciones hormonales

Este estadio se encuentra bajo influencia de los E_2 (dominancia estrogénica). El E_2 es sintetizado y secretado por los folículos ováricos en desarrollo que crecen por influencia de las hormonas gonadotróficas hacia el final del anestro. En el anestro los folículos comienzan a crecer en forma continua, pero no logran madurar sin el apoyo hormonal de la pituitaria. Aquellos folículos que desarrollan en el momento que coincide con la estimulación gonadotrófica maduran y son capaces de sintetizar y secretar E_2 . Esta hormona es la responsable de los cambios de conducta, secreción vaginal, atracción del macho, preparación del útero para la gestación y otros cambios del proestro.

Las concentraciones circulantes de E_2 durante el anestro suelen ser de 8 a 15 pg/ml. Inmediatamente antes del proestro clínico se produce un incremento por encima de 15 pg/ml. El proestro temprano cursa con estrogenemias mayores a 25 pg/ml y en el proestro tardío alcanza picos que pueden superar los 60 a 70 pg/ml, para retornar en forma progresiva a los niveles basales durante los próximos 5 a 9 días. El pico de estrogenemia se produce 24 a 48 h antes de que ocurra la aceptación del macho y comience la declinación de las concentraciones de esta hormona.

Las concentraciones de P_4 son bajas ($< 0,5$ ng/ml) durante todo el proestro salvo en las últimas 12 a 48 h. El final del proestro y el comienzo del estro están caracterizados por progesteronemias que se elevan por encima de 0,5 ng/ml, al mismo tiempo que la estrogenemia disminuye. Este incremento de la P_4 sérica está relacionado con la luteinización preovulatoria de los folículos (28). Los niveles séricos de LH permanecen cerca de los valores basales durante la mayor parte del proestro, habiéndose reportado valores superiores a estos en el anestro tardío y proestro temprano (28, 38). Las concentraciones de gonadotrofinas aumentan en el proestro temprano para luego retornar a niveles basales hasta la próxima onda en el comienzo del estro (13). Las concentraciones de FSH disminuyen durante el proestro, (28) probablemente en relación a la retroalimentación negativa sobre FSH producido por una hormona producida por el folículo ovárico en desarrollo denominada inhibina (25). La PRL puede influenciar el fin del anestro y el inicio del proestro, sus niveles séricos han sido reportados como variables a lo largo del proestro (28).

Citología vaginal

La apariencia de las células exfoliadas de la vagina refleja los cambios que ocurren durante el proestro y el estro y estos cambios de deben al incremento de los E_2 circulantes que ocurre en las hembras caninas bajo la influencia de folículos funcionales y en maduración.

En las muestras de citología vaginal obtenidas durante el proestro temprano se observa una imagen similar a la del anestro tardío, pero con una gran diferencia, la presencia de

sangrado vaginal, por lo tanto se observará un número variable de eritrocitos junto con escasas células parabasales, numerosas células intermedias y escasas células intermedias superficiales. Es corriente observar neutrófilos aunque en bajo número, pudiendo también estar presentes bacterias en pequeñas o grandes cantidades. El fondo de estos extendidos a menudo tiene aspecto sucio debido a la presencia de secreciones cervicales y vaginales viscosas. En el proestro medio, el primer indicio de un efecto estrogénico continuo sobre la citología vaginal es la desaparición de los neutrófilos. Estas células entran a la luz vaginal a través del epitelio vaginal pero luego ya no pueden atravesar la pared vaginal de múltiples capas inducida por los estrógenos, los neutrófilos no deberían ser observados nuevamente hasta el diestro. El número de células parabasales e intermedias pequeñas disminuye y son reemplazadas por células intermedias grandes e intermedias superficiales. Los eritrocitos pueden o no estar presentes y el fondo es sucio o claro. En el proestro tardío el frotis vaginal no contiene neutrófilos, la presencia de eritrocitos es variable y el fondo es claro. Más del 80% de las células vaginales son superficiales con núcleos picnóticos o son superficiales anucleadas (13, 21) (foto 1).

Estro

El comienzo del comportamiento de estro se caracteriza por la receptividad de la hembra que permite el servicio y la aparición de reflejos posturales específicos. El primer día que la hembra permite la cópula es el comienzo del periodo de comportamiento de estro y esta fase finaliza cuando esta ya no acepta el servicio (12).

Signos clínicos

Los cambios de conducta relacionados con el estro son los de una creciente receptividad al macho. Las perras se agachan y elevan el perineo hacia el macho. La presión sobre o cerca de la grupa hará que la cola sea corrida hacia lateral y se hace evidente la tensión del tren posterior para sostener el peso de la monta (12). La perra en celo puede ser pasiva y aceptar al macho o puede abordarlo activamente. Se ha considerado que la perra solo aceptará un macho dominante y rechazará a los sumisos; de esta manera la hembra llevada al territorio del macho tiene más probabilidades de mostrar sumisión y recepción (9). La vulva continúa aumentada de tamaño pero el edema disminuye siendo entonces más flácida que en el estadio anterior para favorecer la penetración del macho. La descarga vulvar disminuye en grado variable y contiene menos sangre que en el proestro, por lo que se vuelve de coloración más clara, sin embargo algunas hembras pueden tener descarga sanguinolenta sin variaciones de color entre el estro y el proestro. En ocasiones, la secreción vaginal puede contener suficiente glucosa como para obtener un registro positivo en las tiras reactivas para orina. Esto puede estar causado por las crecientes progesteronemias que promueven intolerancia a los carbohidratos mediante la estimulación de la GH (hormona de

crecimiento) inducida por la progesterona (12).

Hallazgos en la vaginoscopia

Luego del pico preovulatorio de LH, los pliegues de la mucosa desarrollan surcos en su superficie, con borde arrugado, el color es más pálido y su tonalidad es grisácea, disminuye el edema y ya no ocupan toda la luz vaginal (12, 21). Se puede observar que los pliegues pierden progresivamente el edema, ya no ocupan toda la luz, son más bajos y se hacen menos turgentes a medida que se acerca la ovulación (6, 23).

La duración promedio del celo (comportamiento de estro) es de 9 días con un promedio de 4 a 24 días (2). Debido a las variaciones observadas en el comienzo del comportamiento de estro en relación a la ovulación es preferible tanto para fines clínicos como de investigación considerar un estro endocrinológico. Este comienza con el pico de LH y termina cuando la observación del extendido vaginal indica el primer día del diestro, momento en que la mayoría de los ovocitos oviductales han degenerado. La abrupta caída en el porcentaje de células superficiales que indica el comienzo del diestro, ocurre en promedio, 8 días después del pico de LH. Pudiendo ocurrir tan temprano como 6 y tan tarde como 11 días después del pico de LH. Tanto la fertilidad como el número de ovocitos fértiles declinan rápidamente entre los días 6 y 9 luego del pico de LH (9).

Modificaciones hormonales

La estrogenemia alcanza su pico, 1 o 2 días antes del comienzo del estro. El estro está asociado con una continua declinación de la estrogenemia. La perra comienza a ser receptiva cuando la concentración sérica de estradiol cae a niveles basales y la concentración de progesterona sube de niveles basales (inferiores o iguales 0,5ng/ml) a niveles superiores o iguales a 2 ng/ml alcanzando luego valores de 4-10 ng/ml lo cual marca el comienzo de la fase lútea (6, 21). La disminución de la estrogenemia es un reflejo del proceso madurativo final de los folículos varios días antes de la ovulación (12). La declinación de las concentraciones séricas de estradiol, precede y puede influir el pico de LH que ocurre el día 0 del ciclo y antecede a la ovulación (4).

La combinación de progesteronemias crecientes y estrogenemias declinantes estimula dos eventos mayores. El primero es el cambio en la conducta de la hembra que se vuelve receptiva y el segundo es la retroalimentación positiva que redundará en una onda secretoria de FSH y LH cuando comienza la aceptación del macho.

La P_4 se incrementa por encima del nivel basal antes que ocurra la onda de LH, es decir que las células luteinizadas capaces de sintetizar y secretar progesterona, son funcionales antes que aparezca el cuerpo lúteo. Estas células son las responsables de la elevación pronunciada inicial de la P_4 sérica asociada con el inicio de la aceptación del macho. La declinación del nivel de E_2 junto con el aumento de la progesteronemia puede ser necesaria para la conducta estral de receptividad máxima (12).

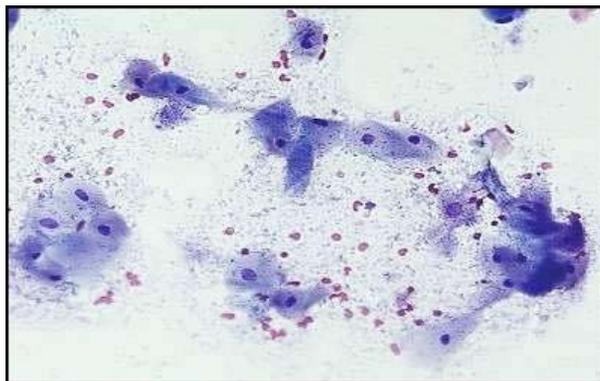


Foto 1

Se considera también que esta combinación hormonal inicia la onda de LH en la perra (4). La onda de LH es seguida por el inicio de la ovulación 24 a 48 h más tarde, para luego producirse la formación del cuerpo lúteo. La progesteronemia aumenta constantemente en estos días y continúa incrementándose por 1 a 3 semanas. Es así que el estro es un período en el que ocurre progresiva caída de estradiol, progresivo aumento de la P_4 y una onda breve (12 a 24 h de duración) de liberación de LH (19).

Algunos cambios hormonales y de comportamiento, relacionados con el comienzo del estro pueden ser variables. Mientras que algunos investigadores han reportado que la onda de LH ocurre el primer día que aparecen los signos de estro otros no hallaron esta correlación (28, 38). En algunas hembras el comienzo del comportamiento de estro puede ocurrir tan temprano como 2-3 días antes de la onda de LH, mientras que en otras no comienza hasta 4 o 5 días después de la onda de LH. La duración de la onda preovulatoria de LH puede variar, con rangos de 24 a 96 horas (28, 38,21). Luego de la onda de LH, las concentraciones de esta hormona permanecen bajas con valores semejantes a los del anestro, proestro temprano o diestro debido a la depleción de la LH pituitaria (28). La ovulación ocurre aproximadamente 2 o 3 días después de que ocurre la onda preovulatoria de LH. La perra ovula ovocitos primarios, por lo tanto, no podrán ser fertilizados hasta 48 o 72 h luego de ocurrida la ovulación, cuando se produce la primera división meiótica y se transforman en secundarios. En este momento los ovocitos han descendido dos tercios a través de los oviductos y se encuentran listos para ser fecundados (32).

El incremento gradual de las concentraciones séricas de P_4 resultantes de la luteinización preovulatoria de los folículos continúa hasta después del pico de LH, cuando sufre el incremento más importante. Los cánidos parecen ser los únicos en mostrar comportamiento de estro en la fase de altas concentraciones de progesterona. Esta variación en las concentraciones de P_4 durante el estro puede ser utilizado, junto con otros parámetros como citología vaginal, vaginoscopia y determinación de LH para estimar el momento de ovulación

(21, 19). Se ha demostrado que la perra normal tiene un aumento de los niveles séricos de testosterona durante el proestro. La testosterona alcanza la máxima concentración cerca de la onda preovulatoria de LH y la conducta de receptividad. Luego de esto los niveles declinan (31).

Citología vaginal

Durante el celo, la citología vaginal se mantiene constante, no existen modificaciones que sugieran el pico de LH o de ovulación o el momento de la fertilización. Las células superficiales nucleadas y anucleadas representan más del 80% del las células vaginales totales y a menudo alcanzan el 100%. No se observan neutrófilos, los eritrocitos pueden o no estar presentes y el fondo del extendido está limpio. Si bien el porcentaje de células superficiales puede fluctuar, nunca será menor al 60% y por lo general se mantiene entre el 80% y el 100%. La citología vaginal es un parámetro que por sí solo es de poca utilidad para predecir el primer día de estro (32) (Foto 2).

Diestro

Signos clínicos

El diestro comienza con el cese del celo, la perra rechaza al macho, al tiempo que es menos atractiva. La descarga vaginal disminuye hasta desaparecer y el edema vulvar se resuelve.

Hallazgos en la vaginoscopia

En la vaginoscopia se observa que los pliegues de mucosa se tornan delgados, lisos y flácidos. El mucus es de color amarillado y filamentosos (6, 12, 23).

Si bien el primer día del diestro es fácilmente identificado por la mayoría de los veterinarios realizando citología vaginal, en este momento la perra ya no está en su periodo fértil por lo que este método puede utilizarse retrospectivamente, para saber si el servicio fue realizado en el momento adecuado, pero no para determinar el momento óptimo de servicio.

Modificaciones hormonales

Las concentraciones de progesterona sérica aumentarán rápidamente por encima de 1 o 2 ng/ml 72 a 96 hs antes de la ovulación y continuarán aumentando durante el estro alcanzando picos de 15 a 90 ng/ml durante 15 a 30 días después de la onda de LH (6). Luego la concentración de progesterona comenzará a declinar gradualmente durante las próximas 5 o 6 semanas. Las perras normales no gestantes que han pasado el celo poseen cuerpos lúteos funcionales a pesar de la ausencia de gestación, el cuerpo lúteo de las perras no gestantes posee un período funcional mayor que el de las gestantes (29). Una vez transcurrido el período de meseta de la progesteronemia diestral, sigue una declinación prolongada de la función lútea. La fase lútea finaliza abruptamente en la perra gestante con el parto (aproximadamente 65 días postfertilización). Mientras que en la no gestante la fase lútea cae lentamente durante un

lapso adicional de 10 a 20 días. (12, 13). Es decir que la duración del diestro será de 2 a 3 meses en ausencia de preñez (12, 13). Las concentraciones de P_4 sérica son semejantes en hembras preñadas y en hembras no preñadas en diestro. Se observó que las progesteronemias serán levemente mayores en perras preñadas, pero las diferencias individuales hacen que la medición sérica de esta hormona no sea de utilidad en el diagnóstico de preñez (5).

En esta especie el mantenimiento de la preñez depende de la producción ovárica de P_4 (36). El cuerpo lúteo parece ser la única fuente de P_4 durante la preñez y la inducción de luteólisis en cualquier momento de la gestación causa interrupción de la preñez o parto prematuro (38). La caída abrupta de la P_4 a valores por debajo de 1 a 2 ng/ml ocurre antes del alumbramiento y es necesaria para que ocurra un parto normal. Puede observarse desarrollo mamario durante el diestro, tanto en hembras preñadas como no preñadas debido al aumento de la P_4 circulante (21). Se requiere la secreción normal de PRL para que se produzca el pico de secreción de P_4 entre los días 8 y 30 de gestación y parece ser un requerimiento absoluto para la secreción de P_4 después del día 30 (9). Los trabajos realizados indican que el cuerpo lúteo requiere soporte de luteotropinas durante el diestro, siendo este imprescindible a partir del día 21 (11). La disminución en la P_4 circulante como consecuencia de una inmunoneutralización de LH o la disminución de la PRL por agonistas dopaminérgicos como bromocriptina, lleva a algunos investigadores a concluir que en perros, la función lútea durante la última mitad del diestro requiere tanto de LH como de prolactina (7). Por otra parte otros investigadores sostienen que la prolactina pero no la LH es necesaria durante la segunda mitad del periodo lúteo (27). En la perra, la función lútea durante la primera mitad del diestro puede ser menos dependiente de la pituitaria (21). La razón de esta diferencia es aún desconocida, pero se sabe que no es debida a las fluctuaciones en los receptores para LH y PRL en el tejido lúteo (14).

Citología vaginal

La citología vaginal de una perra que entra en el diestro está claramente demarcada de la que se observa en una perra al final del estro, ya que el porcentaje de células superficiales cae hasta casi el 20% y el resto de las células son por lo general intermedias. Esto marca un cambio abrupto y evidente en la citología (foto3). Pueden reaparecer los leucocitos en el frotis, pero esto no siempre ocurre. Algunas veces pueden observarse células metaestrales, que son células epiteliales vaginales con uno o dos neutrófilos en su interior, pero también pueden ser observadas en otros momentos del ciclo en los que se encuentren neutrófilos y células espumosas que son células epiteliales vaginales con citoplasma espumoso. Luego de los primeros días del diestro, la citología vaginal es similar a la del anestro con leucocitos y eritrocitos en cantidades escasas y las células epiteliales corresponden a intermedias y parabasales (12, 29).

Anestro

Signos clínicos

Es la fase de reposo del ciclo reproductivo canino que puede ser definida sobre la base de los signos clínicos y de comportamiento. La perra en anestro, no atrae al macho y no está receptiva para el servicio. La vulva es pequeña y la descarga vaginal mínima o ausente. En la hembra no preñada, no existe una demarcación clínica obvia entre el diestro y el anestro.

Hallazgos en la vaginoscopia

En el estudio vaginoscópico de la mucosa se pueden observar pliegues delgados, flácidos y pálidos. La duración del anestro es variable y depende de la edad, salud, raza y otros factores. En la perra promedio durará aproximadamente 4,5 meses.

Cambios hormonales

Endocrinológicamente el anestro suele ser definido como el periodo que sigue al diestro, cuando las concentraciones de progesterona sérica alcanzan niveles basales por debajo de 0.5 a 1 ng/ml.

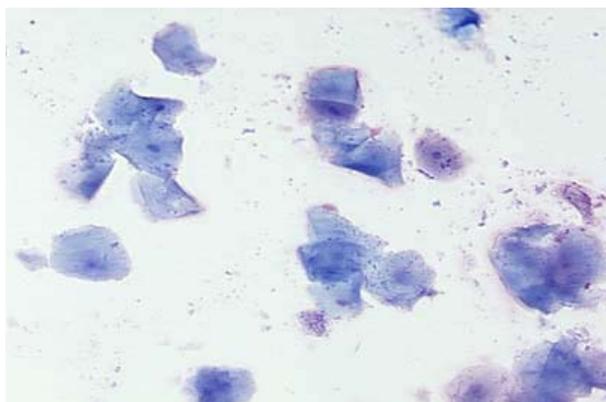


Foto 2

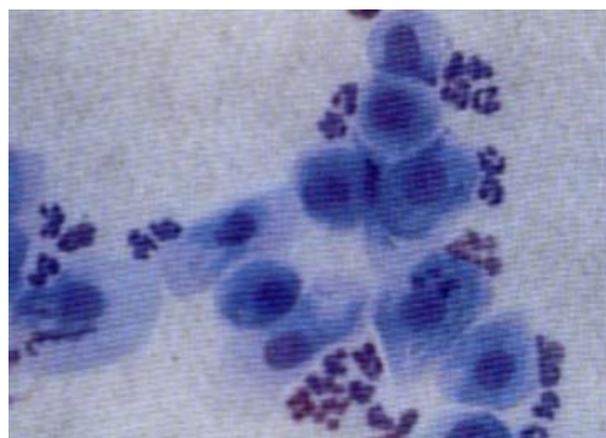


Foto 3

En el anestro tardío, se produce la liberación pulsátil desde el hipotálamo de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) que induce la liberación de gonadotropinas pituitarias, FSH y LH cuyas concentraciones aumentan en ondas pulsátiles con la proximidad del proestro (31, 8, 34, 12). Luego de la estimulación pituitaria, el patrón de liberación será rápido y transitorio para LH y lento y sostenido para FSH (12). Las concentraciones séricas de FSH aumentan, alcanzando en el anestro tardío niveles semejantes a los observados durante la onda preovulatoria de FSH durante el estro. Las concentraciones de estradiol sérico, fluctúan durante el anestro (28) aumentando luego, en el proestro con el desarrollo folicular. Las concentraciones de LH y FSH aumentan dramáticamente en hembras ovariectomizadas cuando se las compara con las perras en anestro (30).

Citología vaginal

En los extendidos vaginales predominan las células parabasales y las intermedias pequeñas. Los neutrófilos pueden o no estar presentes y los eritrocitos suelen no observarse. Pueden o no verse bacterias y la apariencia del fondo del extendido puede ser clara o sucia (12).

Conclusiones

El conocimiento de las diversas hormonas que participan en la reproducción así como las características peculiares del ciclo reproductivo canino es de suma utilidad en la práctica diaria en la obtención de datos de gran importancia para: 1) determinar el día de mayor fertilidad ya sea para implementar servicio natural o inseminación artificial, 2) determinar el primer día del diestro y así aproximar la fecha probable de parto, 3) aproximar el diagnóstico y evaluar las posibilidades terapéuticas de las diversas enfermedades reproductivas, 4) realizar un adecuado manejo del ciclo estral, ya sea para prevenir como para inducir ciclos fértiles.

Es por esto que en las últimas décadas un gran número de investigadores se ha abocado al estudio del ciclo estral canino así como de las hormonas que participan en el mismo, lográndose importantes avances en el manejo del ciclo reproductivo canino.

En la última década el conocimiento obtenido de las investigaciones realizadas en todo el mundo ha permitido lograr la prevención de ciclos estrales mediante protocolos terapéuticos con escasos efectos colaterales. Así mismo se ha logrado mejorar la exactitud en el diagnóstico del momento de mayor fertilidad, aumentando el éxito obtenido en el manejo de los servicios y en inseminación artificial. Finalmente se han podido comprender diversos procesos fisiopatológicos lo cual permitió avanzar en el diagnóstico y tratamiento de la infertilidad. Estos hechos muestran la importancia del conocimiento de la fisiología del ciclo estral en la clínica reproductiva.

Bibliografía

1. Beach FA, Dunbar IF, Buehler MG. Sexual characteristics of female dogs during successive phases of the ovarian cycle. *Horm Behav* 1982; 16:414-442.
2. Bell ET, Christie DW. Duration of proestrus, oestrus and vulvar bleeding in the beagle bitch. *Br J Vet* 1971; 127:25-28.
3. Concannon PW. Induction of fertile oestrus in anoestrous dogs by constant infusion of GnRH agonist. *J Rep Fert* 1989; 39: 149-160.
4. Concannon PW, Cowan R, Hansl W. LH release in ovariectomized dogs in response to estrogen withdrawal and its facilitation by progesterone. *Biol Reprod* 1979; 20: 523-531.
5. Concannon PW, Hansel W, Visek WJ. The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH, progesterone. *Biol Reprod* 1975; 13:112-121.
6. Concannon PW, McCann JP, Temple M. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *Reprod Fert* 1989; Suppl 39:3-25.
7. Concannon PW, Weinstein P, Whaley H. Suppression of luteal function in dogs by luteinizing hormone antiserum and by bromocriptine. *J Reprod Fert* 1987; 81: 175-180.
8. Concannon PW, Whaley S, Anderson SP. Increased LH pulse frequency associated with termination of anestrus during the ovarian cycle of the dog. *Biol. Reprod* 1986; 34: 119.
9. Concannon PW. Reproductive biology and breeding management of the female dog. *Rev Bras Reprod Anim* 2003; 27:2, 157-165.
10. Dumon C, Fontbone A. *Reproduction du chien et du chat*. Ed PMCAC. 82, avenue de Villiers 75017 Paris. 1992; p.1-26.
11. England GCW. *Small animal reproduction*. Work Shop. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP. 2004. p 1-20.
12. Feldman E, Nelson R. *Feline reproduction*. In canine and feline endocrinology and reproduction, 2nd ed. WB Saunders, Philadelphia. 1996; p. 741-768.
13. Feldman EC, Nelson RW. *Canine female reproduction*. En Feldman EC, Nelson RW (eds). *Canine and feline endocrinology and reproduction*. Philadelphia, WB Saunders. 1987; p. 399-480.
14. Fernandes PA, Bowen RA, Kostas AC. Luteal function in the bitch: changes during diestrus in pituitary concentration of and the number of luteal receptors for luteinizing hormone and prolactin. *Biol Reprod* 1987; 37:804-811.
15. Fosberg LC, Wallen A. Effects of whelping and season of the year on the interoestrus intervals in dog. *J Small Anim Pract* 1992; 33:67-70.
16. Fuller JL. Photoperiodic control of estrus in the Basenji. *J Hered.* 1956; 47: 179-180. (Citado por Johnston 2001).
17. Goodman Gilman A, Goodman LS, Rall TW, Murad F. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Ed Panamericana Junín 831 Buenos Aires. 1996; p. 1306-1309.
18. Heape W. The sexual season of mammals and the relationships of pro-estrus to menstruations. Part I. *Q J Microbiol Sci.* 1900; 44: 1-70 (Citado por Johnston 2001).
19. Jeffcoate I. Physiology and endocrinology of the bitch. En Simpson GM, England GCW, Harvey M. *Manual of small animal reproduction and neonatology*, Ed. BSAVA, England, 1998; p. 1-9.
20. Jochle W, Andersen AC. The estrous cycle in the dog: a review. *Theriogenology* 1977; 7:113-140.
21. Johnston SD, Kuztritz MVR, Olson P. *Canine and feline Theriogenology*, Ed. WB Saunders. Philadelphia, 2001; p. 262-264.
22. Johnston SD, Romagnoli SE. *Canine reproduction*. *Vet Clin North Small Anim Pract.* 1991; v 21.
23. Lindsay F E F. The normal endoscopic appearance of the caudal reproductive tract of the cyclic and non-cyclic bitch: post uterine endoscopy. *J Small Anim Pract* 1983; 24:1-15.
24. McDonald LE. *Hormonas de la hipófisis*. En Booth NH, McDonald LE. *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Primera Edición. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza España. 1996; p. 599-600.
25. Mondain-Monval M, Fastard W, Smith A J. Relationships between gonadotropins, inhibin and sex steroid secretion during the periovulatory period and the luteal phase in the blue fox (*Alopex lagopus*) *J Reprod Fert* 1993; Suppl 47:47-56.
26. Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW. *Arthurs' Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Ed. W. B. Saunders. London. 2001.
27. Okkens AC, Bevers MM, Dieleman S J. Evidence for prolactin as the main luteotrophic factor in the cyclic dog. *Vet.* 1990; Q 12 (4): 193-201.
28. Olson PN, Bowen RA, Behrendt MD. Concentrations of reproductive hormones in canine serum throughout late anestrus, proestrus and estrus. *Biol Reprod* 1982; 27:1196-1206.
29. Olson PN. Vaginal cytology. Part 1. A useful tool for staging the canine estrous cycle. *Comp Cont Ed Pract Vet* 1984b; 6:288.
30. Olson PN, Mulnix JA, Nett TM. Concentrations of luteinizing hormone and FSH in the serum of sexually intact and neutered dog. *Am J Vet Res* 1992; 53:762-766.
31. Olson PN. Concentrations of testosterone in canine serum during late anestrus, proestrus, estrus, and early diestrus. *Am J Vet Res* 1984a; 45:145.
32. Plemister RD, Holst PA, Spanos JS. Time of ovulation in the beagle bitch. *Biol Reprod* 1973; 8:74-82.
33. Senger PL. *Pathways to pregnancy and parturition*. Second Edition. Current Conception, INC. 2003.
34. Shille VM, Thatcher MJ, Lloyd ML. Concentrations of LH and FSH during selected periods of anestrus in the bitch. *Biol Reprod* 1987; 36:184.
35. Sokolowski JH. Reproductive patterns in the bitch. *Vet Clin North Am* 1977; 7: 653-666.
36. Sokolowski JH. The effects of ovariectomy on pregnancy maintenance in the bitch. *Lab Anim Sci* 1971; 21: 696-699.
37. Stabenfeldt G H, Edqvist LE. *Procesos de la reproducción de la hembra*. En Swenson MJ, Reece WO. *Fisiología de los animales domésticos de Dukes*. Quinta edición. UTEHA (Noruega), editores. 1999; p. 678-685.
38. Wildt D T, Chacabarty P K, Panko W B. Relationship of reproductive behavioral, serum luteinizing hormone and time of ovulation in the bitch. *Biol Reprod* 1978; 18: 561-570.

39. Wildt DE, Seager SWJ, Chakraborty PK. Behavioral ovarian and endocrine relationships in the pubertal bitch. *J Anim Sci* 1981; 53:182-191.

TENOSINOVITIS NODULAR LOCALIZADA (TNL). PRESENTACIÓN DE UN CASO

LOCALIZED NODULAR TENOSYNOVITIS . A CASE DESCRIPTION

**Brusa MC¹, Svarzman L², Dragonetti A³,
Massone A⁴**

¹Cátedra Patología Quirúrgica y Podología.
²Hospital Escuela. ³Clínica de Pequeños Ani-
males. ⁴Instituto de Patología.
Facultad de Ciencias Veterinarias.
Universidad Nacional de La Plata
mbrusa@fcv.unlp.edu.ar

Resumen

Se describe una afección dolorosa localizada en la zona del carpo del miembro torácico izquierdo. Con características físicas peculiares, habiéndose llegado al diagnóstico definitivo mediante estudios complementarios, siendo el histopatológico el que determino que se trataba de una tenosinovitis nodular localizada (TNL) de los tendones de los músculos extensor carpo radial y flexor digital común.

Abstract

It describes a painful affection localized on the area of the carpus of the left forelimb with peculiar physical characteristics, having arrived to a definite diagnosis through out to the complementary studies being the histopathologic which determined that it was a localized nodular tenosynovitis on the tendons of the extensor radial carpus and common digital flexor muscles.

Palabras clave canino, carpo, deformación, claudicación, osteólisis

Key Words canine, carpus, swelling, lamenes, osteolysis

Introducción:

Las formaciones tumorales y pseudotumorales que asientan en huesos y articulaciones son frecuentes en los miembros de caninos siendo causante de claudicaciones. Estas tumoraciones constituyen, en ocasiones, verdaderos desafíos para el médico clínico en lo referente a su diagnóstico definitivo que le permita emitir un pronóstico y realizar un tratamiento adecuado. Por lo tanto, para alcanzar la certeza en el diagnóstico se requiere una cuidadosa evaluación clínica, radiológica como así también estudios histológicos de las lesiones. Sin una información previa detallada el resultado de los hallazgos microscópicos de biopsias incisionales pequeñas pueden ser mal interpretados. Un diagnóstico definitivo puede requerir múltiples biopsias. La historia clínica debe incluir datos respecto de tiempo de su presentación (súbita o insidiosa) y los signos obtenidos por su exhaustivo examen físico (tamaño, consistencia, localización e impotencia funcional).

Los tumores óseos primarios son frecuentes en caninos y felinos, siendo raros los tumores benignos. Estos últimos comprenden a osteomas, condromas, osteocondromas y hematomas mineralizantes.

Entre las neoplasias malignas, los sarcomas alcanzan al 80% del total de tumores óseos primarios en caninos y felinos, con una localización prevalente en región proximal de húmero, tibia y peroné y en región distal de fémur, radio y cúbito. Los condrosarcomas con el 10% siguen en frecuencia a los anteriores como tipo histológico y se localizan, por lo general en costillas, huesos nasales y pelvis. Los fibrosarcomas con el 7% aparecen especialmente en las metáfisis de los huesos largos de perros machos de razas medianas y grandes.

La incidencia de tumores óseos es más alta en perros de razas grandes y gigantes.

La neoplasias de tejidos blandos se clasifican según sus características en benignos y malignos.

El sarcoma sinovial o sinovioma es una neoformación de tipo maligno, de rara aparición que cursa con un desarrollo lento y escaso poder metastásico. Es un crecimiento de tejido blando articular con capacidad de invadir a los huesos que componen la articulación y provocar la destrucción progresiva de los mismos.

También son numerosas las formación tisulares no neoplásicas que por su aspecto pueden confundirse con tumores de huesos y articulaciones. Las entidades incluidas aquí son la displasia fibrosa, quistes óseos, quistes epidermoides, miositis osificante, sinovitis villonodular, tenosinovitis nodular localizada (TNL), etc.

Caso clínico

Se presenta a la consulta un canino, hembra, de raza Siberian Husky, de 9 años de edad, con claudicación grave del miembro torácico izquierdo y una tumefacción notoria de la región carpiana. La claudicación, de comienzo insidioso y

curso progresivo lleva una evolución aproximada de un año. Conjuntamente con la claudicación se inicia el desarrollo de la tumefacción. Cabe destacar que la paciente nunca fue llevada a consulta ni recibió tratamiento alguno en relación a estos signos.

A la inspección se observa pérdida ponderal moderada y pelo hirsuto. El examen físico de tórax y abdomen no registra anormalidades de interés. Los parámetros fisiológicos se hallan dentro de valores normales y no se detectan cambios de tamaño o forma de los linfonódulos.

Al examen del miembro torácico izquierdo en particular se observa gran atrofia muscular y una tumefacción circunscrita, de aspecto lobulada y centralizada en la región carpiana. (foto 1) La misma es dolorosa al tacto y a la palpación presión de consistencia firme y dura, con áreas fluctuantes. Los movimientos de la articulación se encuentran limitados en su amplitud y muestran signos de crepitación y dolor.

Se indican estudios complementarios de sangre y radiológicos de la región del carpo y tórax, ante la sospecha que la lesión sea de origen neoplásico. Los estudios hematológicos y bioquímicos arrojaron resultados normales. La radiografía muestra severas imágenes osteolíticas de carácter múltiple en distal de radio, cúbito y huesos carpales y en proximal de los huesos metacarpianos. Una opacidad voluminosa y difusa en los tejidos blandos circundantes sugieren la presencia de importante cantidad de líquido, que por su distribución es compatible con una localización sinovial. Su aspecto radiográfico se condice con un proceso neoplásico extendido, que ante la ausencia de signos tales como reacción perióstica y noviformación ósea no se corresponde con un tumor óseo primario propagado. (fotos 2 y 3)

El tórax no presenta imágenes compatibles con procesos neoplásicos primarios o metastásicos.

Los resultados obtenidos son inconsistentes con un diagnóstico de sepsis o neoplasia ósea, por lo que se realiza una biopsia incisional que abarca tejido osteocartilaginoso de la epifisis distal del radio.

El estudio microscópico de la muestra remitida tampoco arroja resultados que permitan establecer un diagnóstico definitivo.

Dado el curso progresivo, dolor manifiesto, naturaleza invasiva e irreversible de la lesión, además de la severa invalidación funcional del miembro, se decide la amputación del mismo a nivel de la diáfisis media del húmero. El procedimiento se realiza utilizando un abordaje y técnica quirúrgica convencional. La recuperación post operatoria se considera satisfactoria, sin complicaciones y acorde a la cirugía realizada.

El miembro amputado es enviado para su estudio anatómico e histopatológico completo. A la disección de la pieza se observa una masa de tejido de forma oval e irregular predominantemente en dorsal y palmar del carpo, involucrando a los tendones de los músculos extensor carpo radial y flexor digital común. También se encontraron infiltraciones de esta masa de tejido anormal entre los huesos de ambas filas del carpo.

(fotos 4 y 5)

El informe del estudio histopatológico concluye con un diagnóstico definitivo de tenosinovitis nodular localizada (TNL) (foto 6).

A seis meses de la intervención quirúrgica, el paciente muestra una evolución favorable con recuperación ponderal y mejoramiento de su estado general y anímico, no presentando signos de recidivas o metástasis relacionados con la enfermedad.

Discusión

La TNL es un pseudotumor benigno que puede ser confundido clínicamente con un tumor. Esta afección, de rara aparición en animales domésticos y encuadrada dentro de las lesiones proliferativas idiopáticas de la sinovia, se la puede hallar en la bibliografía de medicina humana bajo la denominación de tumor de células gigantes benigno. Actualmente es objeto de estudio ya que parece que existen diferencias histopatológicas entre ambos, por lo que representarían entidades distintas. En la bibliografía veterinaria hay un reporte que cita dos casos de TNL, en un Gran Danés hembra de 9 años y en un Doberman Pincher hembra de 8 años.

La TNL se presenta clínicamente con claudicación moderada a grave y tumefacción constituida por tejido blando edematizado que puede erosionar la superficie de los huesos adyacentes al mismo.

De acuerdo a reportes de la enfermedad en seres humanos, el tratamiento consistente en la extirpación o resección



Foto 1. Región de antebrazo y mano izquierda preparada para cirugía de biopsia incisional. Es notoria la tumefacción del



Foto 2 y 3: Radiografías medio-lateral y cráneo-caudal del carpo izquierdo. En ambas proyecciones se observan áreas de osteólisis múltiples en radio, cúbito, huesos carpianos y metacarpiarios, con ausencia de noviformación ósea.



Foto 4: Pieza anatomopatológica (disecada la piel). Los tendones de los músculos extensor carpo radial y extensor digital común y lateral desaparecen dentro del tejido proliferado.



Foto 5: Pieza anatomopatológica (incidida). Muestra la proliferación de tejido blando, lobulado e irregular que invade al hueso y articulación.

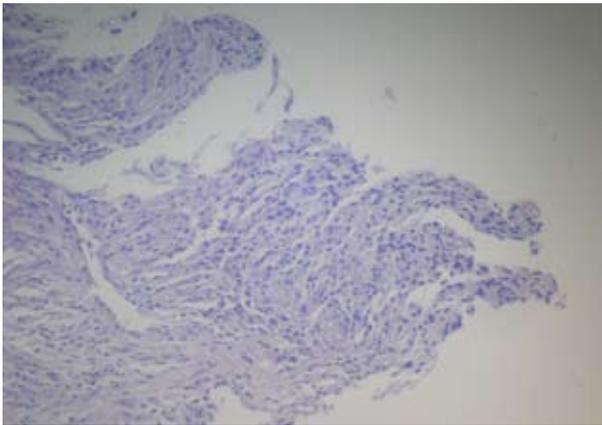


Foto 6: Corte histopatológico del material remitido a estudio. Área sólida, hiper celular con crecimientos en hendidura. (H & E. Obj. 20X)

local del tumor resulta en frecuentes recidivas. Dada la escasa cantidad de casos confirmados por diagnóstico histopatológico en medicina veterinaria, no es posible asegurar en los animales domésticos el mismo tipo de comportamiento que el observado en los seres humanos.

Conclusiones

Se remarca la importancia de realizar un completo y detallado examen clínico y una evaluación cuidadosa del

resultado de los estudios complementarios para alcanzar el diagnóstico certero que permita un pronóstico y tratamiento correspondiente.

Se requieren estudios de inmunohistoquímica para diferenciar lesiones benignas como ésta, de los sarcomas de los tendones y sus vainas.

Al ser escasa la información sobre la evolución de este tipo de neoformación en medicina veterinaria, la elección del tratamiento podría variar de acuerdo al estadio de la enfermedad.

Al tiempo de determinar el tratamiento de este caso no se tuvieron en cuenta los datos de comportamiento del tumor aportados por la bibliografía humana, la cual no ha sido corroborada aún en medicina veterinaria.

La ejecución de un procedimiento radical como el indicado en este paciente está justificado ante la imposibilidad de realizar una cirugía reconstructiva.

Este es el primer caso de TNL diagnosticado en la ciudad de La Plata y dentro de una serie de aproximadamente 5200 tumores y lesiones pseudotumorales realizadas en el Servicio de Anatomía Patológica de la FCV de UNLP.

Bibliografía

1. Pool RR, Thompson KG. Tumors in domestic animals. 4° Ed. Iowa State Press. Iowa 2002 PP 200-206
2. Slayter MV, Boosinger TL, Pool RR, Dämmrich K, Misdorp W, Larsen S. Histological classification of bone and joint tumors of domestic animals. Published by the Armed Forces Institute

of Pathology. American Registry of Pathology. 2nd Series vol I. Washington D.C. 1994

3. Hendrick MJ, Mahaffey EA, Moore FM, Vos JH, Walder EJ. Histological classification of bone and joint tumors of domestic animals. Published by the Armed Forces Institute of Pathology. American Registry of Pathology. 2nd Series vol II. Washington D.C.

4. Craig LE, Julian ME, Ferracone JD. The diagnosis and prognosis of synovial tumors in dogs: 35 cases. *Vet Pathol* 39: 66-73 2002.

5. Loukopoulos P, Heng HG, Arshad H. Canine biphasic synovial sarcoma: case report and immunohistochemical characterization. *J Vet Sci* Vol 5(2) pp 173-180 2004.

6. Thrall DE. Tratado de diagnóstico radiológico veterinario. 3^a ed. InterMédica. Buenos Aires. 2001

7. Daly WR. Amputación del miembro anterior. En Bojrab MJ Técnicas actuales en cirugía de pequeños animales. 4^a ed. InterMédica. Buenos Aires. 2001.

CARACTERIZACIÓN DE TERNEROS CON MENORES GANANCIAS DE PESO POR HIPOCUPROSIS

CHARACTERIZATION OF LOW WEIGHT GAIN IN CALVES WITH HYPOCUPROSIS

Rosa DE¹, LE Fazzio², SJ Picco³,
L Minatel⁴, GA Mattioli¹.

¹Cátedra de Fisiología; ²Cátedra de Clínica
de Grandes Animales; ³Cátedra de Genética y
CONICET, Facultad de Ciencias Veterinarias.

Universidad Nacional de La Plata.

⁴Cátedra de Patología Básica,
Facultad de Veterinaria,
Universidad de Buenos Aires.

Resumen

Una de las consecuencias productivas más graves de la hipocuprosis bovina es la menor ganancia diaria de peso (< GDP) en terneros. Su diagnóstico se realiza empleando valores de riesgo de indicadores indirectos. Estos indicadores presentan una gran variabilidad que posiblemente se deba a que están absorbiendo la variabilidad individual en el grupo. El objetivo de este trabajo fue caracterizar a los animales que están perdiendo peso dentro del grupo con baja performance, con el fin de establecer valores de riesgo más ajustados. Se realizaron cinco ensayos de suplementación hasta la aparición de < GDP. Todos los animales con < GDP (n: 150) se analizaron en conjunto por rangos de GDP. Se diferenciaron sólo dos subgrupos con GDP mayores y menores de 400 gr. Esto sugiere que en los grupos afectados se combinan terneros con alta y baja performance. Estos últimos representan apenas el 16 % del total y presentan concentraciones de Cu en plasma, sangre entera y glóbulos rojos menores de 15, 30 y 60 µg/dl respectivamente, y un porcentaje de hematocrito menor del 35 %. Los valores hallados ayudan a mejorar el valor diagnóstico de los indicadores de riesgo y ayudan a explicar su variabilidad.

Abstract

The low average daily gain (< ADG) is one of the most serious consequences of hypocuprosis in calves. Diagnosis are made using risk values of indirect markers. These markers present a wide variations, which probably occurs because they absorb the individual variations within the group. The aim of this study was characterize the animals with < ADG within the low performance group, in order to find more accurate risk values. Five supplementation trials were done until < ADG occur. All animals with < ADG (n: 150) were analyzed for ADG ranges. Two subgroups with ADG higher and lower than 400 gr were differentiated. It suggest that the affected group combined calves with high and low performance. The last represents just 16 % of total animals, and they had plasma, whole blood and red cell copper concentrations lower than 15, 30 and 60 µg/dl respectively, and PCV lower than 35 %. These results improve the diagnostic values of risk markers and also they help to explain their variability.

Palabras clave hipocuprosis, diagnóstico, terneros, ganancias diarias de peso.

Key Words Hypocuprosis, diagnosis, calves, average daily gain.

Introducción

La hipocuprosis bovina genera serias pérdidas productivas, y una de las más graves es la menor ganancia diaria de peso (< GDP) en terneros de sistemas de cría (9). El diagnóstico precoz de esta situación permitiría prevenir tales pérdidas. Por esta razón se han realizado numerosos ensayos de suplementación con el fin de identificar los mejores indicadores de riesgo de < GDP (10, 11). El parámetro más evaluado y ajustado como indicador ha sido la cupremia (16). Sin embargo, se han informado en terneros con < GDP cupremias entre 2 y 30 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (13, 17), con valores intermedios (3, 4). Tal variabilidad ha generado la propuesta de un rango y no de valores específicos de riesgo (5, 14). Suttle (14) sostiene que tal variabilidad podría deberse al prematuro descenso de cupremia, que antecede a las < GDP, y propone el empleo de la concentración de Cu eritrocitario como un indicador de lento descenso, aunque tampoco pudo definir un valor específico de riesgo. En el mismo sentido la concentración de Cu en sangre entera presentaría una declinación intermedia, pero su utilidad ha sido poco evaluada (2, 6). La concentración hepática de Cu es otro parámetro que al ser evaluado en ensayos de suplementación mostró una gran variabilidad, informándose valores entre menos de 5 y más de 40 ppm sobre base seca en terneros con menores GDP (12). Una posible explicación a la variabilidad de estos parámetros, y que perjudica su valor diagnóstico, podría ser el uso de valores promedio de estos indicadores, que están absorbiendo la variabilidad individual dentro del grupo. El objetivo de este trabajo fue caracterizar a los animales que están perdiendo peso dentro del grupo con baja performance, con el fin de establecer valores de riesgo más ajustados.

Materiales y métodos

En una zona con incidencia endémica de hipocuprosis (7) se realizaron 5 ensayos de suplementación con Cu en terneros hasta la aparición de < GDP. En ese momento todos los parámetros medidos fueron analizados por rangos de GDP.

En cada ensayo de suplementación se emplearon dos grupos de 30 terneros cada uno. Un grupo recibió en cada muestreo 50 mg de Cu parenteral (Cu-EDTA), representando al grupo suplementado (GS), mientras que el otro grupo permaneció bajo las mismas condiciones pero sin recibir Cu, conformando el grupo no suplementado (GNS). El ensayo se inició cuando los animales promediaban los 3 meses de edad, momento en el que se pudieron compatibilizar los requerimientos de los propietarios de los rodeos, evitando el manejo de animales demasiado jóvenes y sin afectar el requerimiento experimental de animales que aún no estuvieran sufriendo < GDP. Los muestreos se realizaron en el 3er, 5to, 6to y 7mo mes de edad. En cada uno de los muestreos se tomó el peso corporal individual y muestras de sangre. La sangre se utilizó para medir las concentraciones de Cu en plasma, en sangre entera y en glóbulos rojos, además del porcentaje de hematocrito. Al comienzo y al final del ensayo se tomaron muestras de hígado de 6 animales por grupo para

determinar su concentración de Cu. Los terneros durante todo el ensayo permanecieron al pie de la madre, bajo un sistema productivo típico de cría en la zona, extensivo y sobre pasturas naturales.

Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción de la vena yugular y recolectadas en tubos con Na_2EDTA como anticoagulante. Las muestras de sangre fueron refrigeradas a 4 °C hasta su procesamiento, dentro de las 6 horas de obtenidas. Las muestras de hígado fueron obtenidas por biopsia (1). Las determinaciones de Cu en plasma y glóbulos rojos fueron realizadas por espectrofotometría de absorción atómica (EAA) (GBC 902, Australia), bajo condiciones de lectura establecidas por el fabricante y previa desproteinización de las muestras en partes iguales con ácido tricloroacético (10 % p/v). La determinación de Cu hepático se realizó por EAA previa digestión húmeda con ácidos nítrico y perclórico (2:1) (8).

Los resultados de los ensayos que implicaron seguimientos en el tiempo fueron evaluados mediante un Análisis de Muestras Repetidas dentro del General Lineal Model del paquete estadístico SPSS 10.0. Se empleó un ANOVA Factorial Mixto o split-plot, utilizando al grupo de origen (GS y GNS) como Factor Inter-sujeto y al tiempo como Factor Intra-sujeto, representando los muestreos los niveles de este factor. Las diferencias entre medias dentro de los factores se establecieron por Comparaciones Múltiples. Los parámetros medidos al presentarse la < GDP discriminados por rangos de GDP fueron evaluados por análisis de varianza con posterior análisis por Comparaciones Múltiples. En todos los casos se exigió una significación estadística del 5 % ($p < 0,05$).

Resultados

En la Tabla 1 se presentan los distintos parámetros medidos al momento de presentarse las < GDP. Se observaron las menores variaciones en los valores promedio de cupremia (de 15 a 22 $\mu\text{g}/\text{dl}$) y las máximas en los de Cu eritrocitario (de 45 a 81 $\mu\text{g}/\text{dl}$).

Los animales que presentaron menores ganancias diarias de peso en los 5 ensayos se analizaron en conjunto y por rango de GDP (Tabla 2).

Discusión

Los parámetros medidos en cada ensayo permitieron generar valores de riesgo de < GDP (Tabla 1). De este modo con cupremias promedio de entre 15 y 22 $\mu\text{g}/\text{dl}$ es esperable una baja performance. Estos valores coinciden con otros autores, incluso en su variabilidad (16). En este sentido las cupremias han sido mucho más estables que los valores de Cu en GR, que variaron entre 45 y 91 $\mu\text{g}/\text{dl}$, lo cual sugiere que para las condiciones de estos ensayos un indicador de lento descenso no sería útil. Esta variabilidad también generó inestabilidad en los valores promedio de Cu en SE, que varió entre 25 y 45 $\mu\text{g}/\text{dl}$

Tabla 1: Concentraciones promedio (\pm error estándar) de Cu en plasma, glóbulos rojos (GR), sangre entera (SE) e hígado, porcentaje de hematocrito (Hto), peso vivo y ganancias diaria de peso (GDP) en cinco ensayos de suplementación al presentarse diferencias de crecimiento entre los grupos suplementado (GS) y no suplementado (GNS) con cobre.**

Parámetro medido	Grupo	Ensayos				
		1	2	3	4	5
Plasma ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	GS	76 (± 2.71) ^a	38 (± 3.98) ^a	61 (± 4.65) ^a	62 (± 2.49) ^a	23 (± 1.61) ^a
	GNS	22 (± 1.41) ^b	15 (± 1.88) ^b	15 (± 1.33) ^b	19 (± 1.23) ^b	16 (± 0.91) ^b
SE ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	GS	89 (± 2.40) ^a	46 (± 3.68) ^a	76 (± 3.46) ^a	79 (± 2.41) ^a	47 (± 2.65) ^a
	GNS	45 (± 1.51) ^b	25 (± 2.17) ^b	31 (± 1.68) ^b	43 (± 2.37) ^b	29 (± 1.38) ^b
GR ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	GS	109 (± 3.49) ^a	59 (± 3.88) ^a	99 (± 3.14) ^a	110 (± 5.27) ^a	85 (± 5.33) ^a
	GNS	81 (± 3.03) ^b	45 (± 3.21) ^b	60 (± 2.93) ^b	91 (± 6.39) ^b	54 (± 3.28) ^b
Hto (%)	GS	41 (± 0.56) ^a	37 (± 0.56) ^a	38 (± 0.53) ^a	35 (± 0.77) ^a	37 (± 0.44) ^a
	GNS	39 (± 0.53) ^b	33 (± 0.95) ^b	36 (± 0.80) ^b	34 (± 0.91) ^b	34 (± 0.73) ^b
Peso (Kg)	GS	134 (± 3.6) ^a	128 (± 5.1) ^a	144 (± 5.1) ^a	188 (± 7.03) ^a	172 (± 5.4) ^a
	GNS	129 (± 4.6) ^b	122 (± 8.5) ^b	129 (± 4.6) ^b	178 (± 5.08) ^b	141 (± 7.9) ^b
GDP (gr)	GS	666 (± 22) ^a	815 (± 47) ^a	623 (± 30) ^a	723 (± 35) ^a	834 (± 17) ^a
	GNS	558 (± 28) ^b	595 (± 61) ^b	489 (± 45) ^b	605 (± 36) ^b	617 (± 43) ^b
Hígado (ppm-MS)	GS	57 (± 9.18) ^a	21 (± 1.85) ^a	94 (± 5.98) ^a	85 (± 13.40) ^a	23 (± 5.51) ^a
	GNS	2 (± 0.26) ^b	16 (± 2.02) ^b	34 (± 8.57) ^b	17 (± 2.94) ^b	20 (± 4.30) ^b

** los resultados corresponden a 30 muestras por grupo a excepción del Cu hepático que se realizó en 6 animales por grupo.

al presentarse las < GDP. El hecho de que la cupremia actúe como un mejor indicador, siendo que ha fallado en otros estudios por descender prematuramente, sugiere que la hipocuprosis se desarrolla muy rápido en el sistema de cría estudiado.

Cuando se analizaron en conjunto los 150 animales afectados, pero discriminados por rangos de crecimiento, quedaron claramente diferenciados dos subgrupos, aquellos que ganan por encima y por debajo de 400 gr. diarios (Tabla 2). Estos resultados permitirían postular que el ternero con baja performance por hipocuprosis es un individuo que no supera los 400 gr de crecimiento diario, que posee concentraciones de Cu en plasma, SE y GR menores a 15, 30 y 60 $\mu\text{g}/\text{dl}$ respectivamente, e incluso

que presenta una disminución en su porcentaje de hematocrito a menos del 35 %. Por otro lado resulta llamativo que el estatus de Cu en los terneros con GDP mayores a 400 gr. es idéntico, sin diferenciar entre terneros con moderado o alto ritmo de crecimiento. Resultaría entonces posible describir a los grupos de terneros con < GDP promedio como el producto de la unión de estos dos subgrupos, con alta y baja performance.

Un aspecto interesante en la distribución por subgrupos es que los terneros con baja performance representan apenas el 16 % del total, que si bien es bajo generó la diferenciación por GDP. Esto significa que en el diagnóstico de riesgo de < GDP en un rodeo de terneros sólo tres de cada veinte presentarán

Tabla 2. Distribución por rangos de GDP de las concentraciones promedio (\pm error estándar) de Cu en plasma, sangre entera (SE), glóbulos rojos (GR) y porcentaje de hematocrito (Hto) en terneros con < GDP.

GDP (rango)	Nº de animales	Plasma ($\mu\text{g/dl}$)	SE ($\mu\text{g/dl}$)	GR ($\mu\text{g/dl}$)	Hto (%)
≤ 200 gr.	7	13 (± 1.7) a	25 (± 2.1) a	50 (± 4.5) a	33 (± 1.2) a
201-400 gr.	17	13 (± 1.0) a	27 (± 2.2) a	57 (± 4.1) a	33 (± 1.0) a
401-600 gr.	49	18 (± 1.0) b	38 (± 1.6) b	72 (± 3.4) b	37 (± 0.6) b
601-800 gr.	46	19 (± 1.2) b	37 (± 1.9) b	67 (± 4.1) b	37 (± 0.7) b
> 800 gr.	31	19 (± 1.4) b	37 (± 1.6) b	67 (± 2.9) b	37 (± 1.3) b
Total	150	18 (± 0.6)	35 (± 0.9)	66 (± 1.9)	36 (± 0.4)

los valores compatibles con baja performance, reforzando la necesidad de realizar muestreos representativos.

La clara diferenciación en dos subgrupos parece contraponerse al concepto de que los animales expuestos a una carencia van profundizando su deficiencia con una declinación progresiva de los indicadores empleados. Los resultados sugieren por el contrario que los animales mantienen un adecuado ritmo de crecimiento hasta un estatus umbral, que una vez transpuesto genera la baja performance. Podría ser entonces la cantidad relativa de animales de uno y otro subgrupo los responsables de los valores promedio del indicador en todo el grupo afectado. Si esto fuera así explicaría la variabilidad en los valores promedio propuestos para los indicadores.

Estos resultados pueden mejorar la evaluación de los indicadores de riesgo de < GDP utilizados. Por ejemplo, si bien los valores promedio de cupremia entre 15 y 22 $\mu\text{g/dl}$ indican el riesgo potencial de baja performance, el encontrar valores de 13 $\mu\text{g/dl}$ daría la pauta de que ya comenzaron las mermas en el crecimiento.

Concluimos que bajo las condiciones de los presentes ensayos los terneros con baja performance poseen valores definidos de estatus de Cu, y que posiblemente su cantidad relativa dentro del grupo sea la causa de la variabilidad en los valores propuestos como riesgo de < GDP.

Bibliografía

1. Erwin ES, Dyer IA, Meyer TO, Scott KW. Uses of aspiration biopsy technique. *J Anim Sci* 1956;15:428-34.
2. Fazio LE. Caracterización de terneros de cría con hipocuprosis Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. 2006; p. 57-70.
3. Gengelbach, G. P., Ward, J. D. and Spears, J. W.. Effect of die-

tary copper, iron, and molibdenum on growth and copper status of beef cows and calves. *J. Anim. Sci.* 1994; 72: 2722-2727.

4. Humphries WR, Phillippo M, Yuong BW, Bremner Y. The influence of dietary iron and molibdenum on copper metabolism in calves. *Br J Nutr* 1983; 49: 77-86.

5. Kincaid RL. Assesment of trace minerals of ruminants: A review. *Proceeding of the American Society of Animal Science* 1999; p. 1-10.

6. Lopez-Alonso M, Crespo A, Miranda M, Castillo C, Hernandez J, Benedito JL Assessment of some blood parameters as potential markers of hepatic copper accumulation in cattle.. *J Vet Diagn Invest.* 2006; 18 (1):71-5.

7. Mattioli GA, Ramirez CE, Giuliodori MJ, Tittarelli CM, Yano H., Matsui T. Characterization of cattle copper deficiency in the Magdalena Distric. *Livestock Production Science* 1996; 47: 7-10.

8. Mattioli GA. Caracterización de la hipocuprosis bovina en el Partido de Magdalena (Provincia de Buenos Aires) Tesis doctoral Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. 1998; p. 45-49.

9. McDowell, L. R.. *Mineral in Animal and Human Nutrition.* Academic Press, NY, USA. 1992; p.176-202.

10. Mills CF, Dalgarno AC, Wenham G. Biochemical and pathological changes in tissues of friesian cattle during the experimental induction of copper deficiency. *Br J Nutr* 1976; 35: 309-31.

11. Phillippo M. The role of dose-response trials in predicting trace element deficiency disorders. En *Trace elements in animals productions and veterinary practice.* Occ. publication N° 7 - British Society of Animal Production. Edit: Suttle NF, Gunn RG, Allen WM, Linklater KA, Wiener G. 1983; 3.2: 51-60.

12. Rosa DE, Mattioli GA. Metabolismo y Deficiencia de Cu en Bovinos. *Analecta Veterinaria* 2001; 22(1):7-16.

13. Steffan PE, Fiel CA, Odriosola ER, Acuña CM, Rojas Panelo

FM. Evaluación y comparación de dos productos de aplicación parenteral, en la terapéutica de la hipocuprosis de los novillos. *Rev Arg Prod Anim.* 1982; (2) 1-10.

14. Suttle NF. The nutritional basis for trace element deficiencies in ruminant livestock. En *Trace elements in animals productions and veterinary practice.* Occ. publication N° 7 - British Society of Animal Production. Edit: Suttle, N. F., Gunn, R. G., Allen, W. M., Linklater, K. A. and Wiener G. 1983; 2.1: 19-25.

15. Suttle NF. Problems in the diagnosis and anticipation of trace element deficiencies in grazing livestock. *Vet Rec.* 1986; 119: 148-152.

16. Underwood EJ, Suttle NF. *The Mineral Nutrition of Livestock.* CABI Publishing. London. UK. 1999; p. 283-342.

17. Viejo RE, Casaro AP. Efectos de la suplementación con cobre sobre la ganancia de peso, cobre hepático y plasmático en terneros. *Rev Arg Prod Anim* 1993; 13: 97-105.