



CEU

*Universidad
Cardenal Herrera*

Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud
Departamento de Medicina y Cirugía Animal

**SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA DURANTE EL
CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PURA RAZA ESPAÑOLA:
INTERRELACIONES CON OTRAS HORMONAS Y CON EL
ESTADO HIDROELECTROLÍTICO**

TESIS DOCTORAL

Paloma Montesinos Herrero

Valencia 2012

**KATIUSKA SATUÉ AMBROJO, DOCTOR EN VETERINARIA Y PROFESOR ADJUNTO
DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA ANIMAL DE LA UNIVERSIDAD
CEU CARDENAL HERRERA**

INFORMA

Que la Tesis Doctoral titulada **“SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PURA RAZA ESPAÑOLA: INTERRELACIONES CON OTRAS HORMONAS Y CON EL ESTADO HIDROELECTROLÍTICO”** del que es autora Doña Paloma Montesinos Herrero, Licenciada en Veterinaria, ha sido realizada bajo mi dirección, en el Departamento de Medicina y Cirugía Animal en el marco del Programa de Doctorado de Ciencias de la Salud, y reúne las condiciones científicas y formales para ser presentada ante el tribunal correspondiente a fin de obtener el Grado de Doctor.

Y para que conste, firmo el presente en Moncada (Valencia), a 29 de Febrero de 2012.

Fdo. Katiuska Satué Ambrojo

*Para mis padres, que
son para mí un ejemplo
de trabajo y esfuerzo*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecerle a Katy toda la ilusión y la energía que ha puesto en este trabajo siendo mucho más que una tutora. Gracias también a Manuel Manso y Antonio Calvo por su colaboración en este trabajo.

Doy las gracias al Hospital Clínico Veterinario de la Universidad CEU-Cardenal Herrera y muy especialmente a la técnico de laboratorio, Amparo por la colaboración prestada en la realización del análisis laboratorial de las muestras de sangre.

Agradezco al Profesor Doctor D. José Ignacio Redondo García su gran ayuda y el asesoramiento constante en el análisis estadístico de los datos.

De forma especial, agradezco al Laboratorio del Departamento de Fisiología de la Universidad Complutense de Madrid, la seriedad mostrada en la realización del análisis de las muestras.

Gracias a mi novio por su paciencia conmigo en los momentos de tensión.

Por último gracias a mi familia, especialmente a mis padres por su constante apoyo y a mi hermana que, como siempre, me ha ayudado a entender mejor las cosas.

ÍNDICE

1. <u>INTRODUCCIÓN, OBJETIVOS, HIPÓTESIS Y BENEFICIOS DE LA INVESTIGACIÓN</u>	10
1.1.-INTRODUCCIÓN	10
1.2.-OBJETIVOS	13
1.3.-HIPÓTESIS	14
1.4.-BENEFICIOS DERIVADOS DE LA INVESTIGACIÓN	15
1.4.1.-CIENTÍFICOS	15
1.4.2.-CLÍNICOS	15
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>.....	16
2.1.-FISIOLOGÍA DEL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA.....	16
2.1.1.-MECANISMOS NEUROENDOCRINOS QUE CONTROLAN LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA EN LA YEGUA.....	16
2.1.2.-ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA.....	17
2.1.3.-CICLO ESTRAL.....	19
2.1.3.1.-ESTRO O FASE FOLICULAR	19
2.1.3.1.1.-DINÁMICA OVÁRICA: PATRÓN DE CRECIMIENTO FOLICULAR Y OVULACIÓN.....	20
2.1.3.1.2.-MODIFICACIONES COMPORTAMENTALES Y DEL TRACTO REPRODUCTOR DURANTE EL ESTRO EN LA YEGUA	22
2.1.3.2.-DIESTRO O FASE LUTEÍNICA	23
2.1.3.2.1.-ESTABLECIMIENTO DEL CUERPO LÚTEO.....	24
2.1.3.2.2.-MODIFICACIONES COMPORTAMENTALES Y DEL TRACTO REPRODUCTOR DURANTE EL DIESTRO EN LA YEGUA	25
2.1.3.3.-ASPECTOS ENDOCRINOLÓGICOS DEL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA.....	26
2.1.3.3.1.-FACTOR LIBERADOR DE GONADOTROPINAS.....	26
2.1.3.3.2.-HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE.....	27
2.1.3.3.3.-HORMONA LUTEINIZANTE.....	28
2.1.3.3.4.-ESTRADIOL-17 β	28
2.1.3.3.5.-PROGESTERONA.....	29
2.1.3.3.6.-PROSTAGLANDINA F2 α	30
2.2.-SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA.....	30
2.2.1.-COMPONENTES DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA	31
2.2.1.1.-RENINA.....	31
2.2.1.2.-ANGIOTENSINÓGENO (AOPEN)	33
2.2.1.3.-ANGIOTENSINA I	33
2.2.1.4.-ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA.....	34
2.2.1.5.-ANGIOTENSINA II.....	35
2.2.1.5.1.-EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA ANGIOTENSINA II	37

2.2.1.5.1.1.-A NIVEL RENAL	37
2.2.1.5.1.2.-A NIVEL DE LA CORTEZA ADRENAL.....	38
2.2.1.5.1.3.-EFECTOS VASCULARES SISTÉMICOS.....	38
2.2.1.5.1.4.-A NIVEL CARDIACO	38
2.2.1.5.1.5.-A NIVEL CEREBRAL	39
2.2.1.5.1.6.-SISTEMA NERVIOSO	39
2.2.1.5.1.7.-PIEL.....	39
2.2.1.6.-ALDOSTERONA	39
2.2.1.6.1.-EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA ALDOSTERONA	40
2.2.1.6.1.1.-A NIVEL RENAL Y CIRCULATORIO.....	40
2.2.1.6.1.2.-GLÁNDULAS SUDORÍPARAS Y SALIVALES	41
2.2.1.6.1.3.-ABSORCIÓN INTESTINAL.....	42
2.3.-CORTISOL.....	42
2.3.1.-EFECTOS FISIOLÓGICOS DEL CORTISOL	42
2.3.1.1.-METABOLISMO	42
2.3.1.1.1.-METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS	42
2.3.1.1.2.-METABOLISMO PROTEICO	43
2.3.1.1.3.-METABOLISMO LIPÍDICO	44
2.3.1.2.-SISTEMA ENDOCRINO	45
2.3.1.3.-SISTEMA MUSCULOESQUELÉTICO.....	45
2.3.1.4.-PIEL Y TEJIDO CONECTIVO.....	45
2.3.1.5.-SISTEMA CARDIOVASCULAR.....	45
2.3.1.6.-SISTEMA RENAL	46
2.3.1.7.-HEMATOPOYESIS Y SISTEMA INMUNITARIO.....	46
2.4.-PARÁMETROS INDICADORES DEL ESTADO HIDROELECTROLÍTICO	47
2.4.1.-VALOR HEMATÓCRITO.....	47
2.4.1.1.-MANEJO DE LA MUESTRA Y PRECISIÓN DE LAS DETERMINACIONES.....	47
2.4.1.2.-ACTITUD Y GRADO DE EXCITACIÓN.....	48
2.4.1.3.-ALIMENTACIÓN	48
2.4.1.4.-ESTACIÓN DEL AÑO Y RITMOS BIOLÓGICOS DE TIPO CIRCADIANO	48
2.4.1.5.-RAZA.....	49
2.4.1.6.-EDAD	49
2.4.2.-ELECTROLITOS PLASMÁTICOS EN EL CABALLO.....	50
2.5.-MODIFICACIONES DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA, CORTISOL Y PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL EQUILIBRIO HIDROELECTROLÍTICO DURANTE EL CICLO ESTRAL	52
2.5.1.-SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA.....	52

2.5.1.1.-FASE LUTEÍNICA	52
2.5.1.2.-FASE FOLICULAR.....	57
2.5.2.-CORTISOL.....	58
2.5.3.-MODIFICACIONES DE LOS PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL EQUILIBRIO HIDROELECTROLÍTICO DURANTE EL CICLO ESTRAL.....	61
2.5.3.1.-VALOR HEMATÓCRITO	61
2.5.3.2.-ELECTROLITOS (SODIO, POTASIO Y CLORO)	62
3.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	65
3.1.- CENTRO DE REALIZACIÓN	65
3.2.- SELECCIÓN DE LOS ANIMALES.....	65
3.2.1.- DESCRIPCIÓN GENERAL DE LOS ANIMALES	65
3.2.2.- CONDICIONES DE CRÍA Y ALIMENTACIÓN.....	66
3.2.3.- MANEJO REPRODUCTIVO	67
3.3.- OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS.....	67
3.3.1.- PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN, MANIPULACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS	67
3.3.2.- ANÁLISIS LABORATORIAL.....	68
3.3.2.1.-ANÁLISIS HEMATOLÓGICO Y BIOQUÍMICO	68
3.3.2.2.- ANÁLISIS HORMONAL	69
3.4.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	70
4.- RESULTADOS	72
4.1.- PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE	73
4.2.- EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PRE	74
4.3.-CORRELACIONES ENTRE LOS DIVERSOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PRE	85
5.- DISCUSIÓN	86
5.1.- PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE	86
5.1.1.-PARÁMETROS HORMONALES DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE.....	86
5.1.1.1.-SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA.....	86
5.1.1.1.1.-RENINA.....	86
5.1.1.1.2.-ANGIOTENSINA II	87
5.1.1.1.3.-ALDOSTERONA	88
5.1.1.2.-CORTISOL	90
5.1.1.3.-DIÁMETRO FOLICULAR, ESTRADIOL-17 β Y PROGESTERONA	91

5.1.2.-PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE	91
5.1.2.1.-VALOR HEMATÓCRITO	91
5.1.3.-PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE	94
5.1.3.1.-CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ELECTROLITOS	94
5.1.3.1.1.-SODIO.....	94
5.1.3.1.2.-POTASIO	94
5.1.3.1.3.-CLORO	95
5.2.-EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PRE	95
5.2.1.-EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS HORMONALES DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PRE.....	96
5.2.1.1.-SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA.....	96
5.2.1.1.1.-RENINA.....	96
5.2.1.1.2.-ANGIOTENSINA II	98
5.2.1.1.3.-ALDOSTERONA	99
5.2.1.2.-CORTISOL	101
5.2.1.3.-DIÁMETRO FOLICULAR.....	103
5.2.1.4.-ESTRADIOL-17 β Y PROGESTERONA	107
5.2.1.4.1.-ESTRADIOL-17 β	108
5.2.1.4.2.-PROGESTERONA.....	111
5.2.2.-EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PRE	113
5.2.2.1.-VALOR HEMATÓCRITO	113
5.2.3.-EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PRE.....	116
5.2.3.1.-CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ELETROLITOS.....	116
5.2.3.1.1.-SODIO.....	116
5.2.3.1.2.-POTASIO	117
5.2.3.1.3.-CLORO	118
6.-CONCLUSIONES	120
7.-RESUMEN	122
8.-SUMMARY.....	124
9.-ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....	126
9.1.-ÍNDICE DE FIGURAS	126
9.2.-ÍNDICE DE TABLAS	127

10.-ÍNDICE DE ABREVIATURAS	128
11.-BIBLIOGRAFÍA	130

1.-INTRODUCCIÓN, OBJETIVOS, HIPÓTESIS Y BENEFICIOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.-INTRODUCCIÓN

En hembras reproductivas de diversas especies no gestantes se ha mostrado que los componentes del sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), prorenina (PROREN), renina (REN), angiotensina-II (ANG-II) y aldosterona (ALD) se expresan en órganos reproductivos, como útero (*Hagemann, 1997; Hurley y cols., 2009*) y ovarios (*Hagemann, 1997; Del Pilar y cols., 2009; Feitosa y cols., 2010; Sneeringer y cols., 2011*). Durante el ciclo estral, la expresión de tales componentes está relacionada estrechamente con funciones reproductivas específicas que abarcan foliculogénesis (*Schauser y cols., 2001*), maduración ovocitaria (*Haulica y cols., 1988; Costa y cols., 2003; Pountain y cols., 2010*), ovulación (*Brunswig-Spickenheier y Mukhopadhyay, 2003; Costa y cols., 2003; Ferreira y cols., 2007; Pereira y cols., 2009; Pountain y cols., 2010; Sneeringer y cols., 2011*), atresia folicular (*Mukhopadhyay y Brunswig-Spickenheier, 1996; Brunswig-Spickenheier y Mukhopadhyay, 2003*), desarrollo del cuerpo lúteo y luteolisis (*Schauser y cols., 2001; Brunswig-Spickenheier y Mukhopadhyay, 2003; Herr y cols., 2010; Sneeringer y cols., 2011*), esteroidogénesis (*Hagemann y cols., 1993; Del Pilar y cols., 2009; Herr y cols., 2010*), angiogénesis (*Del Pilar y cols., 2009*) y expresión de determinadas sustancias vasoactivas (*Sneeringer y cols., 2011*).

Estas funciones a nivel ovárico derivan concretamente de la expresión de los componentes del SRAA a nivel de las células de la granulosa y de la teca del folículo preovulatorio. Debido a que las células de la granulosa expresan PROREN y REN, la elevación de las concentraciones de REN tras el pico de LH sugiere un papel determinante del SRA en el desarrollo y maduración folicular (*Hagemann y cols., 1994; Yoshimura y cols., 1994*). Asimismo, en las células tecales la expresión de PROREN, REN y ANG-II se relaciona con procesos fisiológicos como neovascularización folicular, regulación de la síntesis de estrógenos y progesterona (P4) y la ovulación (*Le Gall y cols., 1993; Ferreira y cols., 2007; Herr y cols., 2008; Gonçalves y cols., 2010*). Además, en los folículos ováricos se han aislado elevados niveles de ALD y su precursor, corticosterona. Ambas hormonas, unidas a la proliferación de receptores para la ALD a nivel del ovocito, sugieren un papel crucial sobre el desarrollo ovocitario (*Sneeringer y cols., 2011*).

La mayoría de las funciones atribuidas al SRAA durante el ciclo estral derivan de la expresión de receptores AT2 a nivel de las células de la granulosa y de la teca. La ANG-II es un potente vasoconstrictor, y su función en el ovario se relaciona con la modulación del flujo sanguíneo ovárico en el proceso ovulatorio. Durante el periodo de

crecimiento folicular los capilares proliferan alrededor del antro folicular y tras el pico de LH, el flujo sanguíneo se incrementa principalmente a nivel de los vasos de los folículos destinados a ovular (*Mitsube y cols., 2003*). Asimismo, determinados péptidos derivados de la ANG-II, como la ANG (1-7) podrían estimular la producción de precursores androgénicos a nivel de las células tecales, que posteriormente serán convertidos a estradiol a nivel de las células de la granulosa bajo la acción de la ANG-II (*Pereira y cols., 2008; Vaz-Silva y cols., 2009*).

Por otro lado, la expresión intrafolicular de REN y ANG-II ejerce un papel preponderante sobre la angiogénesis y neovascularización necesarios para la correcta funcionalidad del cuerpo lúteo (CL) y la síntesis de P4 (*Schauser y cols., 2001; Herr y cols., 2008*). Finalmente, el SRAA participa en procesos relacionados con atresia folicular. Así, en un folículo en proceso de atresia se produce incremento intrafolicular de PROREN, REN y receptores AT2 para la ANG-II. Tanto la PROREN como la REN actúan disminuyendo el flujo sanguíneo a los folículos menos desarrollados, degenerando posteriormente (*Schultze y cols., 1989; Le Gall y cols., 1993; Mukhopadhyay y Brunswing-Spickenheier, 1996*).

De forma genérica, los acontecimientos fisiológicos en los que participa el SRAA durante el ciclo estral vienen dados por modificaciones específicas de sus componentes. Así, existen gran cantidad de investigaciones realizadas en la mujer, que describen un incremento de actividad plasmática de la REN (APR) (*Sundsfjord y Aakvaag, 1970; Sundsfjord, 1971; Katz y Romfh, 1972; Sundsfjord y Aakvaag, 1972; Sealey y cols., 1985; 1987; Magness y Rosenfeld, 1989; Magness, 1993; Sealey y cols., 1994; Chapman y cols., 1997; Miller y cols., 1999; Chidambaram y cols., 2002; Ounis-Skali y cols., 2006*), ANG-II (*Sundsfjord y Aakvaag, 1970; Robertson y cols., 1971; Magness, 1993; Sealey y cols., 1994; Chapman y cols., 1997; Miller y cols., 1999; Spaanderman y cols., 2000; Chidambaram y cols., 2002; Ounis-Skali y cols., 2006; Szmuiłowicz y cols., 2006*) y secreción de ALD (*Skinner y cols., 1969; Robertson y cols., 1971; Katz y Romfh, 1972; Sundsfjord y Aakvaag, 1973; Oelkers y cols., 1974; Michelakis y cols., 1975; Frolich y cols., 1976; Wambach e Higgins, 1978; Sealey y cols., 1985; 1987; Chapman y cols., 1997; Spaanderman y cols., 2000; Chidambaram y cols., 2002; Ounis-Skali y cols., 2006; Szmuiłowicz y cols., 2006*) durante la fase luteal, respecto a la fase folicular del ciclo estral.

Se hipotetiza que la secreción de P4 por parte del CL durante la fase luteal es la fuente primordial de REN y ALD (*Michelakis y cols., 1975*). Los elevados niveles de P4 mantenidos durante el periodo luteal inducen incremento del flujo plasmático renal, de la filtración glomerular y natriuresis. Este efecto natriurético estimula de forma

compensatoria la síntesis y liberación de REN, ANG-II y ALD (*Sundsford y Aakvaag, 1970, 1972; 1973; Sundsford, 1971; Katz y Romfh, 1972; Oelkers y cols., 1991; Sealey y cols., 1994; Oelkers, 1996; Chapman y cols., 1997; Hirshoren y cols., 2002; Nakamura y cols., 2009*). No obstante, esta idea no es defendida por todos los autores (*Szmuilowicz y cols., 2006*), sugiriendo que la síntesis de ALD puede ser independiente de los efectos de la REN y ANG-II a nivel ovárico.

Otro de los acontecimientos fisiológicos que caracterizan el ciclo estral en relación a la dinámica de los componentes del SRAA en la mujer viene determinado por el incremento preovulatorio de REN, PROREN (*Sealey y cols., 1987; Loret de Mola y cols., 1999*), ANG-II (*Weir y cols., 1976*) y ALD (*Sundsford y Aakvaag, 1970; 1973; Frolich y cols., 1976; Weir y cols., 1976*). En animales de experimentación (*Howard y cols., 1988; De Vito y cols., 1988; 1989*) y babuinos (*Harewood y cols., 1996*) se han descrito mecanismos similares. Dentro de los mecanismos potencialmente relacionados con dicha respuesta se describen el efecto estimulador de los estrógenos sobre la síntesis de angiotensinógeno (AOGEN) (*Gordon y cols., 1992*), variaciones hemodinámicas y del flujo sanguíneo renal, modificaciones de las concentraciones de sodio (Na) a nivel de la mácula densa y alteraciones en la actividad simpática local (*Chidambaram y cols., 2002; Szmuilowicz y cols.2006; Sealy y Laragh, 2011*). No obstante, en babuinos esta respuesta se ha relacionado con ciertas modificaciones de los volúmenes de distribución de los fluidos peritoneal y plasmático durante el ciclo estral (*Harewood y cols., 1996*).

Entre otros factores inductores de elevación pre u ovulatoria de REN, ANG-II y ALD se citan, la corticotropina (ACTH) y el valor hematocrito (HTO). El cortisol (CORT) bajo el estímulo de la ACTH podría contribuir al pico preovulatorio de ARP y ALD, ya que se trata del factor regulador primordial de la síntesis de ALD (*Chidambaram y cols., 2002; Pechère-Bertschi y cols., 2002; Szmuilowicz y cols., 2006*). En humanos y animales de experimentación la administración de REN o ANG-II aumenta el nivel de eritropoyetina (EPO), potente estimulador humoral de la eritropoyesis (*Fried y cols, 1982; Freudenthaler y cols, 1999*).

Hasta la actualidad, las aportaciones científicas que evalúan la dinámica de los componentes del SRAA en relación a la fisiología hormonal de la yegua son muy escasas y fragmentarias, considerando de forma aislada determinados periodos dentro del ciclo reproductor (*Broughton Pipkin y cols., 1982; 1984; Forhead y cols., 2000*) y más extensamente a lo largo del periodo gestacional en la yegua PRE (*Satué y cols., 2007; Domingo, 2008; Satué y Domingo, 2008, a, b; Domingo y Satué, 2008; Satué y Domingo, 2010, a, b; Satué y Domingo, 2011, a, b*). Estos últimos estudios confirmaron que el incremento de actividad del SRAA durante la gestación, podría estar relacionado con

determinadas respuestas metabólicas y hormonales que contribuyen al control de la homeostasis en yeguas gestantes.

En conocimiento de los autores, no existe ningún estudio de investigación hasta la actualidad en el que se especifique claramente la dinámica que experimentan los componentes del SRAA a lo largo del ciclo estral en la yegua. Debido a la implicación de la REN, ANG-II y ALD en procesos fisiológicos durante el ciclo estral como, desarrollo folicular, ovulación, establecimiento y funcionalidad del CL, principalmente, se requiere de un profundo conocimiento de las fluctuaciones fisiológicas cíclicas normales que experimenta el SRAA durante este periodo, así como las interrelaciones que se producen entre sus componentes y las hormonas dominantes en cada fase del ciclo. La existencia de un modelo de funcionalidad del SRAA en yeguas fisiológicamente normales podrá ser aplicada posteriormente a otros modelos patológicos de tipo reproductivo. Determinados procesos patológicos de origen diverso que habitualmente se producen en yeguas durante la temporada reproductiva y que alteran el patrón normal de ciclicidad y fertilidad, tal vez pudiesen estar relacionados con cambios en la expresión y la actividad de algunos de los componentes del SRAA. Este estudio experimental representa el primer examen laboratorial sobre la dinámica de los componentes del SRAA y su interrelación con determinadas hormonas y parámetros relacionados con el equilibrio hidroelectrolítico en la yegua PRE durante el ciclo estral.

1.2.-OBJETIVOS

En base al desconocimiento de los mecanismos implicados en el mantenimiento de la homeostasis hidroelectrolítica y ácido-básica relacionadas con el SRAA y las interacciones con las hormonas reproductivas durante el ciclo estral en la yegua, los objetivos que se han perseguido en la presente investigación son los siguientes:

PRIMERO. Establecer valores de referencia de las concentraciones de renina, angiotensina II, aldosterona, estradiol-17 β , progesterona, cortisol, valor hematócrito y electrolitos, sodio, potasio y cloro en yeguas reproductivas cíclicas PRE. El establecimiento de valores de referencia debería ser un requisito previo a la toma de decisiones clínicas, en relación a las complicaciones patológicas que pueden ponerse de manifiesto en yeguas reproductoras durante el ciclo estral.

SEGUNDO. Analizar si el ciclo estral en la yegua PRE induce modificaciones en las dinámicas de los componentes del SRAA, renina, angiotensina II y aldosterona, al

igual que acontece en otras especies animales. A nivel práctico, resulta de vital importancia al clínico de équidos conocer el modelo de referencia sobre el perfil hormonal y sanguíneo que experimenta la yegua sana, ya que la instauración de patologías de diverso origen, podrían manifestar variaciones substanciales en sus dinámicas.

TERCERO. Verificar si la liberación de estradiol-17 β , progesterona, cortisol así como el valor hematocrito y las concentraciones de sodio, potasio y cloro están implicados fisiológicamente en las modificaciones que experimentan los componentes del SRAA a lo largo del ciclo estral en la yegua PRE. La influencia de parámetros directamente relacionados con el mantenimiento del equilibrio hidroelectrolítico podría ayudar a dilucidar qué mecanismos están relacionados con la actividad del SRAA en yeguas cíclicas.

1.3.-HIPÓTESIS

En base a estos antecedentes, las hipótesis que se han emitido para la realización del presente trabajo de investigación han sido las siguientes:

PRIMERA.- Que el ciclo estral condicionaría modificaciones importantes en diversos parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales, que podrían justificar la creación de rangos de referencia específicos para yeguas PRE no gestantes.

SEGUNDA.- Que el ciclo estral induciría hiperactividad del SRAA al igual que ocurre en otras especies, y que en el origen en dichos cambios podrían estar involucradas las hormonas dominantes en cada fase del ciclo, estradiol y progesterona y otras hormonas, como el cortisol.

TERCERA.- Que diversos factores hematológicos y bioquímicos de naturaleza no hormonal, como el valor hematocrito y las concentraciones plasmáticas de electrolitos (sodio, potasio y cloro) podrían estar implicados en las modificaciones de la actividad del SRAA durante el ciclo estral.

1.4.-BENEFICIOS DERIVADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Los beneficios que podrían derivarse de la presente investigación podrían ser clasificados en dos categorías, científicos y clínicos:

1.4.1.-CIENTÍFICOS

El presente trabajo de investigación representa el primer estudio realizado sobre la dinámica del SRAA en la yegua PRE en relación al ciclo estral. Resulta primordial para el veterinario clínico de équidos conocer la dirección y magnitud de las modificaciones de los componentes del SRAA y las interrelaciones con las hormonas reproductivas, al proporcionar una ayuda práctica para el diagnóstico de patologías que podrían cursar con hallazgos hematológicos, bioquímicos y hormonales similares. Además, se podrían establecer rangos de referencia más estrechos para yeguas PRE en diferentes momentos del ciclo reproductor.

1.4.2.-CLÍNICOS

El conocimiento de la funcionalidad del SRAA así como de los fármacos y vías de bloqueo ayudarán a prevenir y resolver gran cantidad de patologías que se producen en la actualidad en équidos, como fallo cardiaco, renal, hipertensión y laminitis, relacionadas con los efectos perjudiciales presores de la ANG-II. El mal pronóstico que presentan este tipo de procesos justifica la creación, el ensayo, y la utilización de nuevos fármacos (*Davis y cols., 2002; Gehlen y cols., 2003; Gardner y cols., 2004; Luciani y cols., 2007; Sleeper y cols., 2008; Chen y cols., 2010*).

2.-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El objetivo de la presente investigación ha sido analizar la evolución de los componentes del SRAA y su interrelación con los niveles de estrógenos, progesterona, cortisol, y otros parámetros relacionados con el equilibrio hidroelectrolítico, como hematocrito y electrolitos a lo largo del ciclo estral en la yegua. A tal fin, la revisión bibliográfica se ha estructurado en tres apartados. En el primero de ellos se describe la fisiología reproductiva en la yegua, considerando los mecanismos neuroendocrinos que controlan la actividad reproductiva, estacionalidad y ciclo estral. En este mismo apartado se hace especial referencia a aspectos relacionados con el desarrollo folicular y ovulación, establecimiento y desarrollo del cuerpo lúteo, que serán los responsables de las modificaciones endocrinológicas, del tracto reproductor y comportamentales que rigen específicamente la fase folicular y luteínica del ciclo estral en esta especie. En el segundo apartado se aborda la descripción y las funciones específicas de los componentes del SRAA, cortisol, valor hematocrito y electrolitos, sodio, potasio y cloro, más concretamente relacionados con la reproducción. En el tercer y último apartado se exponen los antecedentes bibliográficos relacionados con el ciclo estral, en relación a los parámetros anteriormente descritos en distintas especies animales.

2.1.-FISIOLOGÍA DEL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA

2.1.1.-MECANISMOS NEUROENDOCRINOS QUE CONTROLAN LA ACTIVIDAD REPRODUCTIVA EN LA YEGUA

Desde el punto de vista reproductivo la yegua se define como una hembra poliéstrica estacional de día largo o fototrópica positiva, en la cual la actividad reproductiva está regulada directamente por el fotoperiodo. Los fotoreceptores de la retina captan la información del estímulo luminoso y la transforman en impulso nervioso. El impulso nervioso es transportado a través del nervio óptico al núcleo supraquiasmático y posteriormente, al ganglio cervical superior. Este último posee terminaciones neuronales adrenérgicas que llegan a la glándula pineal, lugar donde se libera el neurotransmisor serotonina. A través de la serotonina N-acetiltransferasa la serotonina es transformada en N-acetilserotonina, también denominada normelatonina. La normelatonina junto con la N-acetilserotonina o-metiltransferasa (ASMT) intervienen en la síntesis de melatonina (*Haimov y Lavie, 1995*).

La melatonina se libera durante las horas de oscuridad, siguiendo un patrón de secreción inversamente proporcional a la cantidad de horas luz. Como resultado de la mayor exposición al fotoperiodo en las estaciones de primavera y verano, la secreción de

melatonina disminuye, lo cual a su vez favorece la liberación del factor liberador de gonadotropinas (GnRH) a nivel hipotalámico. La GnRH entra en el sistema vascular portal hipotalámico hipofisario, y de ahí es transportada a la adenohipófisis (*Cunningham y Klein, 2009*), lugar en el que se sintetizan las hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH). Ambas gonadotropinas son vehiculadas vía sanguínea hasta el ovario, lugar en el que ejercen específicamente sus funciones (*Alexander e Irvine, 1993; Irvine y Alexander, 1993*). La FSH actúa a nivel de las células de la granulosa del folículo preovulatorio favoreciendo el crecimiento, maduración folicular y la síntesis de estrógenos. A nivel de las células de la teca, la LH participa en la maduración ovocitaria, ovulación, establecimiento, desarrollo y mantenimiento del CL, así como en la síntesis de P4. Ambos esteroides ováricos controlan el EHH mediante mecanismos de retroalimentación, determinando así el ciclo estral en la yegua (*Sharp y Davis, 1993; Evans y cols., 2011; Velez y cols., 2012*).

2.1.2.-ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA

Los cambios en la duración del fotoperiodo determinan la estacionalidad reproductiva en la yegua, estableciéndose un ciclo reproductivo de carácter circanual integrado a su vez por cuatro periodos que difieren endocrino y fisiológicamente: periodo de transición primaveral, estación ovulatoria o estación de cría, transición otoñal y anestro invernal (*Crowell-Davis, 2007; Aurich, 2011*).

El periodo de transición primaveral se pone de manifiesto tras el anestro invernal a inicios de primavera debido al incremento del número de horas de luz o fotoperiodo, y culmina tras un periodo de 2 meses, con el inicio de la actividad reproductiva regular y fértil característica de la estación ovulatoria. Aunque este periodo presenta gran variabilidad interindividual tanto en características como en duración, las yeguas muestran un patrón de actividad sexual errático, caracterizado por la presencia de celos duraderos e irregulares (*Aurich, 2011*).

El incremento de FSH al inicio de este periodo origina oleadas foliculares menores, caracterizadas por el desarrollo de diversos folículos de 6 y 21 mm de diámetro, que regresan simultáneamente, en ausencia de un folículo dominante (*Ginther y cols., 2004, a, b*). Las bajas concentraciones de estradiol-17 β (E2) e inhibina debido a la ausencia de folículo preovulatorio inhiben al mismo tiempo el feedback negativo sobre la FSH, por lo que los niveles de dicha gonadotropina permanecen aumentados. Sin embargo, la deficiencia estacional de LH resulta en bajas concentraciones de E2, inhibina y otros factores presentes en el líquido folicular como, el factor de crecimiento insulínico

tipo 1 (IGF-I), conduciendo al fallo ovulatorio. Por este motivo, a la palpación rectal o examen ecográfico es frecuente la aparición de diversos folículos antrales pequeños, de tamaño similar (20-30 mm) en el ovario (*Sharp y Davis, 1993*). El final de este periodo debido a la influencia del fotoperiodo, describe oleadas foliculares mayores que desarrollan un conjunto de folículos, que si bien, la mayoría regresa, uno de ellos alcanza un tamaño superior a los demás. Las concentraciones crecientes de E2 por parte del folículo preovulatorio inducen la oleada provulatoria de LH, que culmina con la aparición de la primera ovulación, que indicará el inicio de la estación ovulatoria, momento en el que comienza la actividad cíclica fértil (*Aurich, 2011*).

La estación ovulatoria o estación de cría se extiende desde abril a septiembre en el hemisferio norte y de octubre a marzo en el hemisferio sur. El comienzo de la etapa reproductiva sucede cuando el número de horas de luz es suficiente para suprimir el reflejo inhibitorio inducido por la melatonina sobre la liberación de GnRH. La secreción de GnRH es continua, con pulsos cada hora en estro y cada dos horas en diestro. Por cada ciclo estral pueden producirse una o dos oleadas foliculares mayores en virtud del patrón uni o bimodal de secreción de FSH. El patrón bimodal ocurre más específicamente al inicio de la estación ovulatoria, mientras que a mediados o finales de este periodo se establece un patrón unimodal (*Ginther, 1992; Pierson, 1992*). A diferencia del periodo de transición, caracterizado por oleadas foliculares menores, en la estación reproductiva se desarrollan oleadas foliculares mayores, que conducen a la formación de un folículo dominante. La influencia de estos patrones hormonales condiciona cierta variabilidad a la duración de los ciclos, siendo más duraderos al inicio (meses de abril o mayo) que a finales de la estación reproductiva (junio o julio). Se ha hipotetizado que la finalidad de la estacionalidad reproductiva es garantizar que los nacimientos ocurran en la época del año más favorable, en virtud de las condiciones ambientales de temperatura y disponibilidad de alimentos, para el correcto desarrollo del neonato (*Crowell-Davis, 2007; Aurich, 2011*).

Las elevadas temperaturas, así como la disminución de la influencia del fotoperiodo a finales de verano, favorecen el inicio del periodo de transición otoñal, que en el hemisferio norte comprende los meses de octubre a diciembre. Ambos factores ambientales implican una serie de cambios paulatinos destinados a terminar temporalmente con la activación de folículos antrales y el proceso ovulatorio. La FSH vuelve a presentar un patrón bimodal, como al inicio de la temporada reproductiva, con una frecuencia de secreción de un pulso cada dos días, por lo que el diámetro del folículo de mayor tamaño disminuye gradualmente a medida que avanza éste periodo y con él la síntesis de E2 (*Irvine y cols., 2000*). Este declive de estrógenos inhibe el pico preovulatorio

de LH, que culmina con la ausencia de crecimiento folicular y la detención de la ovulación a inicios de invierno (*Turner y cols., 1979; Crowell-Davis, 2007*).

La pérdida de capacidad para ciclar en las yeguas en anestro viene dada por la escasa influencia del fotoperiodo sobre los niveles de gonadotropinas, que comprende los meses de diciembre, enero y mediados de febrero en el hemisferio norte. El aumento del número de horas de oscuridad durante el invierno favorece la liberación de elevadas concentraciones de melatonina, bloqueando al mismo tiempo el EHHG. En este caso la secreción de GnRH se produce de forma pulsátil, con amplitud y frecuencia muy bajas, resultando insuficiente para estimular la secreción de gonadotropinas, FSH y LH (*Alexander e Irvine, 1991*). A la palpación rectal, los ovarios se aprecian pequeños y duros debido a la ausencia de folículos de tamaño superior a 15 mm. El útero pierde tono muscular y se vuelve flácido. A veces, se prefiere denominar a esta etapa anovulatoria y no anestro, ya que algunas yeguas presentan signos de celo debido a la liberación de estrógenos por parte de las glándulas adrenales (*Aurich, 2011*).

Adicionalmente, dichos patrones estacionales pueden modificarse en virtud de una de gran diversidad de factores como, temperatura, latitud, región geográfica, raza, edad, estado fisiológico, presencia de estrés y enfermedades, condición corporal, alimentación, etc. (*Davies Morel y cols., 2010; Vecchi y cols., 2010*).

2.1.3.-CICLO ESTRAL

El ciclo estral se define cronológicamente como el periodo de tiempo comprendido entre dos ovulaciones consecutivas. La duración aproximada oscila entre 18 y 22 días, considerando como media un periodo de 21 días (*Bergfelt, 2000; Ginther y cols., 2008*). La nomenclatura actual establece que el ciclo estral está integrado por dos fases perfectamente diferenciadas: estro o fase folicular y diestro o fase luteínica. Estas fases se caracterizan por modificaciones internas de los órganos sexuales y del sistema glandular, así como alteraciones comportamentales en base a los patrones de E2 y P4 dominantes en cada una de ellas, respectivamente (*Crowell-Davis, 2007; Aurich, 2011*).

2.1.3.1.-ESTRO O FASE FOLICULAR

El estro, calor o fase folicular se caracteriza por la presencia de folículos en diversos estadios de desarrollo e incremento simultáneo de la secreción de E2. Tiene una duración media aproximada de 5 a 7 días, con una variabilidad de 3 a 9 días, relacionada con la estación del año. Así, el estro se alarga en otoño (7-10 días) y se acorta

considerablemente, a finales de primavera e inicios de verano (4-5 días). Durante este periodo la yegua es sexualmente receptiva al semental, el tracto genital está preparado para la recepción y transporte de espermatozoides y culmina finalmente con la ovulación (*Squires, 1993; Crowell-Davis, 2007; Ginther y cols., 2008*).

2.1.3.1.1.-DINÁMICA OVÁRICA: PATRÓN DE CRECIMIENTO FOLICULAR Y OVULACIÓN

El desarrollo folicular ovárico es un proceso dinámico complejo, caracterizado por la proliferación y diferenciación marcadas de las células foliculares, proporcionando un ambiente óptimo para la maduración del ovocito y su preparación para la fertilización tras la ovulación (*Armstrong y Webb, 1997*). El desarrollo folicular viene dado por el crecimiento sincrónico de oleadas foliculares, conformadas por cohortes de folículos que son seleccionados para crecer a partir de la reserva de folículos “en reposo”. Entre los folículos reclutados en cada oleada se establece una competencia por la dominancia, en la cual un solo folículo de la cohorte adquiere el desarrollo competente que le permitirá seguir creciendo, al tiempo que sus compañeros sufrirán atresia. La regulación de cada oleada y selección folicular implica interacciones entre las gonadotropinas circulantes y determinados factores intrafoliculares, garantizando que cada folículo sea estimulado adecuadamente, para crecer o retroceder en cualquier etapa de desarrollo (*McMeen, 2002*).

A nivel experimental, la aparición de una oleada folicular se define como el crecimiento o emergencia simultánea de un número variable de folículos inferiores a 6 a 13 mm de diámetro (*Ginther y Bergfelt, 1993; Ginther y cols., 2001*). En la yegua estas oleadas foliculares se clasifican dependiendo de su capacidad para desarrollar el folículo dominante (oleadas principales) o si por el contrario, sólo generan folículos de pequeño tamaño (oleadas menores). Así, las oleadas principales o mayores originan varios folículos subordinados y uno o varios folículos dominantes, mientras que en las oleadas menores, el folículo de mayor tamaño no supera los 30 mm de diámetro y posteriormente regresa (*Ginther, 2000; Donadeu y Ginther 2002; Ginther y cols., 2004, a, b*).

Durante cada ciclo se producen 1 o 2 oleadas foliculares mayores, diferenciadas según el momento de su aparición en primarias y secundarias. La oleada mayor primaria ocurre hacia la mitad del diestro, en la cual el folículo dominante ovula al final o cercano al final del estro. La oleada mayor secundaria precede a la anterior y emerge durante el final del estro o muy a inicios del diestro. De forma genérica, se producen dos oleadas foliculares anovulatorias seguidas de una oleada ovulatoria durante el ciclo (*Ginther,*

1990; Irvine y cols., 2000). Existen profundas diferencias en el patrón de oleadas foliculares a nivel de raza en équidos. Así, mientras que en yeguas Quarter Horse y ponis usualmente se desarrolla una oleada principal en diestro tardío, que culmina con la ovulación durante el estro, en yeguas PSI se produce una oleada secundaria en diestro temprano, en la cual el folículo dominante puede llegar a ovular, transformarse en hemorrágico o bien regresar (Ginther 2000; Stabenfeldt y cols., 2010).

Pierson (1992) describió la importancia de la participación de las gonadotropinas FSH y LH en el desarrollo folicular. Los folículos antrales adquieren receptores para la FSH y LH a nivel de las membranas de las células de la granulosa y de la teca, respectivamente. Las células tecales bajo el predominio de la LH sintetizan andrógenos, que posteriormente serán aromatizados a estrógenos a nivel de las células de la granulosa, previamente estimuladas por la FSH. El aumento de las concentraciones de estrógenos estimula la secreción de LH, que a su vez induce mayor síntesis de estrógenos. Dicho aumento progresivo de estrógenos también promueve la aparición de receptores LH en las células de la granulosa, lo cual facilita la transición de la etapa antral al estadio preovulatorio, momento en el que el ovocito alcanzará el estadio final de maduración.

A los 6 días del inicio de la oleada mayor se produce la desviación, mecanismo que refleja la tasa de crecimiento folicular que diferencia el tamaño del folículo preovulatorio (22,5 mm), respecto al de los folículos subordinados (19 mm) (Gastal y cols., 1997; Watson y cols., 2002; Ginther y cols., 2004). La desviación se relaciona con la secreción de inhibina (Donadeu y Ginther, 2002) y con la IGF-1 (Ginther y cols., 2002; 2004). Concretamente, la inhibina reduce la secreción de FSH a niveles basales, imposibilitando a los folículos subordinados proseguir su desarrollo (Ginther y Bergfelt, 1993; Ginther, 2000). Sin embargo, el folículo dominante continúa creciendo a una tasa constante de 2-3 mm por día, hasta alcanzar un tamaño de 40 mm en respuesta a la mayor sensibilidad a la FSH. Como se ha expresado previamente, en este estadio de desarrollo, las células de la granulosa también desarrollan receptores para la LH, necesarios para la maduración final del ovocito y la ovulación tras la oleada preovulatoria de LH (Gastal y cols., 1999; 2000).

El diámetro máximo del folículo ovulatorio generalmente fluctúa entre 40-45 mm en diversas razas equinas como, Quarter Horse, Árabes, PSI y PRE (Vivo y cols., 1992; Vinuesa y Vivo, 1993; Bergfelt y Adams, 2007), aunque el rango puede ser muy superior (30 a 70 mm) (Bergfelt y Adams, 2007; Aurich, 2011). No obstante, en razas de peso inferior a 350 kg o de poca alzada el diámetro suele ser inferior (35-40 mm) (Driancourt y Palmer, 1984; Davies Morel y cols., 2010). Asimismo, se han establecido diferencias en

tamaño en relación a la estación o presencia de ovulaciones múltiples. Así, los folículos alcanzan un tamaño 5-8 mm superior en primavera que en verano u otoño y son 4 a 9 mm inferiores en ovulaciones múltiples respecto a las ovulaciones simples (*Bergfelt y Adams, 2007; Davies Morel y cols., 2010*).

Las máximas concentraciones estrogénicas secretadas por las células de la granulosa del folículo preovulatorio también inducen la aparición de manifestaciones comportamentales típicas de celo y del aparato reproductor, encargadas de garantizar la recepción, transporte de espermatozoides y fertilización del ovocito (*Bergfelt, 2000; Crowell-Davis, 2007*). Tras la oleada preovulatoria de LH, la ovulación ocurre de forma espontánea 24 a 48 horas antes de la finalización de la fase folicular. El proceso ovulatorio trae consigo la rápida evacuación del ovocito y líquido folicular tras la dehiscencia folicular a nivel de la fosa de ovulación. Una vez concluida la ovulación, las concentraciones de E2 retornan a niveles basales, finalizando al mismo tiempo el comportamiento estral en la yegua (*Ginther y cols., 2001; Youngquist y Threlfall, 2007; Donadeu y Pedersen, 2008; Gastal, 2009; Stabenfeldt y cols., 2010; Gastal, 2011, a*).

2.1.3.1.2.-MODIFICACIONES COMPORTAMENTALES Y DEL TRACTO REPRODUCTOR DURANTE EL ESTRO EN LA YEGUA

El predominio estrogénico durante la fase folicular (fase proliferativa) es el responsable de las modificaciones comportamentales y del tracto reproductor durante el celo en la yegua. Entre los signos externos de celo se describen, inquietud e irritabilidad, búsqueda del semental, elevación lateral de la cola, micciones frecuentes, secreción mucosa, centelleo vulvar y eversión del clítoris. Entre otros signos de celo también destacan relajación de la cabeza y músculos faciales, descenso de la pelvis y separación de las extremidades posteriores para atender y acomodar al pene en el momento de la cópula (*Bergfelt, 2000; Crowell-Davis, 2007*).

Al examen colposcópico puede detectarse incremento del diámetro longitudinal de la vulva, congestión y edematización de las mucosas vulvar y vaginal (*Bergfelt, 2000; Crowell-Davis, 2007; Samper y Pycock, 2007*). El cuello uterino se encuentra abierto, relajado, flácido y edematoso, observándose la salida de mucus de consistencia fluida (*Bergfelt, 2000; Crowell-Davis, 2007*). El incremento de vascularización bajo la dominancia estrogénica origina ausencia de tono en cuello, cuerpo y cuernos uterinos, detectables mediante palpación rectal. El crecimiento folicular se hace detectable por el aumento de tamaño y tono ovárico (*Samper y Pycock, 2007*), que durante la semana previa a la ovulación aumenta de forma lineal a 2,7 mm por día (*Ginther, 1992*). No

obstante, 24-48h antes de la ovulación éste puede perder tonicidad y detener su crecimiento, hecho que ocurre en un elevado porcentaje de yeguas (40%) (*Palmer y Driancourt, 1980; Ginther, 1992*). El tono uterino no presenta modificaciones específicas hacia el momento de la ovulación (*Bergfelt, 2000; Crowell-Davis, 2007*), si bien, el colapso de la pared folicular tras la ruptura puede ser identificado como una depresión en la superficie ovárica (*Samper, 2008*).

El examen ecográfico del cuerpo y cuernos uterinos manifiesta un patrón heterogéneo característico alternante que comprende zonas ecogénicas e hipoecogénicas, íntimamente relacionado con el incremento de estrógenos (*Pycock y cols., 1995*). Las zonas ecogénicas corresponden a las porciones internas de los pliegues endometriales, mientras que las porciones no ecogénicas son indicativas de la existencia de edema a nivel de la submucosa. De forma ocasional puede aparecer escasa cantidad de fluido libre intrauterino de carácter fisiológico. En poneis y yeguas de diversas razas como Appaloosa, Quarter Horse, PSI, Dutch Warmblood, Standardbred, los pliegues endometriales se hacen visibles 7-8 días previos, aumentando progresivamente el día de la ovulación. A nivel de los cuernos uterinos son características las imágenes ecográficas en forma de “rueda de carro” relacionadas con la presencia de edema e hipertrofia de los pliegues endometriales (*Hayes y cols., 1985*). Mediante control ecográfico también puede detectarse miocontractibilidad del cuello, cuerpo, cuernos y trompas uterinas durante el periodo estral (*Bergfelt, 2000; Crowell-Davis, 2007*). Tras la dehiscencia folicular, desaparece el edema endometrial y los pliegues se hacen indetectables (*Ginther y Pierson, 1984; Hayes y cols., 1985; McKinnon y cols., 1987; Ginther, 1992; Pycock y cols., 1995*).

La ecografía del ovario revela un número variable de folículos de consistencia anecogénica, que pueden variar en tamaño según el momento del desarrollo (*Bergfelt, 2000; Bragg Wever y cols., 2002; Crowell-Davis, 2007; Samper y Pycock, 2007; Ginther y cols., 2008*). El folículo preovulatorio exhibe modificaciones morfológicas pronunciadas, variando de forma esférica a cónica o de pera en el 84% de los periodos preovulatorios, mientras que los folículos restantes mantienen la forma esférica (*Ginther, 1992*). El colapso de la pared folicular tras la ruptura también puede ser detectado mediante ecografía como un área irregular hiperecogénica en la cortical del ovario (*Samper, 2008*).

2.1.3.2.-DIESTRO O FASE LUTEÍNICA

El diestro o fase luteínica se inicia en el momento de la ovulación con la formación del CL, órgano encargado de la síntesis de progesterona. A diferencia de la fase folicular,

la insensibilidad del CL al fotoperiodo hace que la duración de este periodo sea más constante. De hecho, la mayoría de investigaciones estiman una duración media de 14-15 días, aunque puede ser más duradera a mediados de verano (16 días) que en primavera u otoño (13 días) (*Crowell-Davis, 2007; Ginther y cols., 2008*).

2.1.3.2.1.-ESTABLECIMIENTO DEL CUERPO LÚTEO

La desorganización de la pared folicular tras la ovulación permite a los vasos sanguíneos y fibroblastos invadir la cavidad folicular. La luteinización comprende cambios estructurales y funcionales de las células de la granulosa, que en principio fueron productoras de E2, transformándose posteriormente en células luteales, secretoras de P4. De hecho, las células luteínicas derivan de la acción de la LH sobre las células de la granulosa, que comienzan a sintetizar P4. La P4 se mantiene elevada a partir del día 5 post ovulación hasta la finalización del diestro y ejerce funciones específicas relacionadas con la preparación del endometrio para aceptar y mantener la gestación, desarrollo de las glándulas endometriales e inhibición de la contractilidad miometrial (*Youngquist y Threlfall, 2007*).

Se han descrito dos tipos de CL en relación a la presencia o no de coágulo sanguíneo central. En un elevado porcentaje de casos (50-70%) en el lugar de la ovulación se desarrolla un coágulo central rodeado de tejido luteal. Este tipo de condición morfológica luteal se define como cuerpo hemorrágico. La cavidad comienza a llenarse de trasudado, fibrina y sangre durante las primeras 24 horas, alcanzando el tamaño máximo a los 3 días. Alrededor del 5º día post-ovulación, los CLs que desarrollan cavidad central suelen tener un tamaño significativamente superior (32,8 mm) a los que carecen de ella (26,0 mm). La proporción del diámetro máximo del CL es del 65 a 80% respecto al tamaño del folículo preovulatorio y posee una pared externa de 4-7 mm de espesor, correspondiente a la porción de tejido luteinizado. Al igual que sucede con el tamaño, la textura también se modifica en función del tipo de CL. Mientras que los CL que desarrollan cavidad central son más densos, los que no la presentan suelen ser más esponjosos (*Dickson y Fraser, 2000*). De forma genérica, el ratio tejido luteal no luteal del cuerpo hemorrágico es mínimo durante el diestro temprano y máximo hacia la mitad del diestro. Estos acontecimientos se relacionan con la disminución gradual de fluidos como resultado de la producción y organización de tejido conectivo asociado con el mecanismo de la coagulación (*Berfelt y Ginther, 1992; Ginther, 1995*). Cabe destacar que la formación de un tipo u otro de CL es un acontecimiento al azar. De hecho, la repetibilidad

de la morfología luteal no siempre se detecta en ovulaciones subsecuentes (*Ginther, 1992; Berfelt y Ginther, 1992; 1995*).

Adicionalmente, los niveles de P4 sostenidos durante el diestro reducen la frecuencia e intensidad de los pulsos de GnRH mediante mecanismo feedback. No obstante, debido a que los pulsos de FSH son superiores a los de LH, se desarrolla una nueva oleada folicular durante este periodo. A nivel experimental, se han realizado cortes seccionales en el ovario hacia la mitad del diestro, observándose alternancia de CL y folículos en diversos estadios de desarrollo, que pueden llegar a alcanzar un tamaño variable (2 a 30 mm) o regresar. En ausencia de gestación la finalización de la fase luteínica culmina con la lisis del CL inducida por la PGF2 α de origen endometrial y descenso de las concentraciones de P4 (*Crowell-Davis, 2007; Ginther y cols., 2008*). La regresión del CL implica una serie de acontecimientos estructurales y funcionales caracterizados por la disminución de la vascularización, incremento de tejido conectivo, hialinización, fibrosis y atrofia (*Samper, 2008*).

2.1.3.2.2.-MODIFICACIONES COMPORTAMENTALES Y DEL TRACTO RESPRODUCTOR DURANTE EL DIESTRO EN LA YEGUA

Durante el diestro (fase secretora) el dominio de la P4 induce modificaciones comportamentales y en los genitales tubulares caracterizados por la pérdida de edema y conducta de celo, característicos de la fase folicular. Durante este periodo son frecuentes los reflejos de vocalización en la yegua y agresiones o coceo para evitar el acercamiento del semental (*Crowell-Davis, 2007*).

Mediante examen colposcópico las mucosas vulvar, vaginal y del cuello uterino aparecen pálidas, secas, con escasa cantidad de mucus de apariencia viscosa. El diámetro longitudinal de la vulva se acorta y el cuello uterino aparece cerrado, pálido y central (*Ginther y cols., 2008; Crowell-Davis, 2007*).

A la palpación rectal el cuello, cuerpo y cuernos uterinos aparecen firmes, tubulares y estrechos, si bien el tono uterino es más discreto que durante la gestación. Aunque es difícil de explorar, el CL podría palpable durante los primeros días post-ovulación, si bien, los folículos en desarrollo (de diámetro inferior a 25 mm) no serían identificables (*Samper, 2008*).

Mediante control ecográfico se evidencia un patrón homogéneo, caracterizado por la pérdida de prominencia de los pliegues endometriales y escasa cantidad de fluido intrauterino (*Ginther y Pierson, 1984; Montavon, 1994; Plata-Madrid y cols., 1994*).

Mientras que el tejido luteal se identifica hipocogénico, la ecogenicidad se incrementa en el tejido conectivo del estroma ovárico. A pesar de que el diámetro del cuerpo hemorrágico es superior al del CL sin cavidad central, la proporción de tejido luteal es similar en ambos tipos (*Ginther y Pierson, 1984; Berfelt y Ginther, 1992; Montavon, 1994; Plata-Madrid y cols., 1994; Ginther, 1995*). El patrón de ecogenicidad varía según el periodo de crecimiento o desarrollo y regresión del CL, ya que está inversamente relacionado con el grado de vascularización (*Ginther, 1995; Bergfelt y Adams, 2007*). Además, estas modificaciones en el patrón de ecotextura endometrial y luteal están relacionadas estrechamente con los niveles de P4 (*Arruda y cols., 2001; Ferreira-Díaz y cols., 2006*). Así, el incremento progresivo de P4 que caracteriza el diestro temprano se asocia con aumento del diámetro y vascularización luteal y descenso de la ecogenicidad. Las máximas concentraciones de P4 que definen la mitad del diestro se relacionan con diámetro y vascularización máximos y mínima ecogenicidad. La regresión del CL y el descenso de P4 se corresponden estructuralmente con la disminución del área luteal y vascularización e incremento de la ecogenicidad. La glándula lútea es visible ecográficamente hasta el día 17 del ciclo (*Burris, 1999*). Dichos cambios estructurales preceden a las variaciones funcionales durante el periodo de maduración y regresión de la glándula lútea (*Bergfelt y cols., 1998; Bollwein y cols., 2002; Bergfelt y Adams, 2007; Ginther, 2011*).

2.1.3.3.-ASPECTOS ENDOCRINOLÓGICOS RELACIONADOS CON EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA

Los acontecimientos fisiológicos que tienen lugar durante el ciclo estral están regulados por la interrelación coordinada de diversas hormonas y factores liberadores como GnRH, FSH, LH, E2, P4 y PGF2 α , entre otros (*Cunningham y Klein, 2009*). A continuación se describen las modificaciones más notables que experimentan cada uno de ellos y su implicación fisiológica durante el ciclo estral en la yegua.

2.1.3.3.1.-FACTOR LIBERADOR DE GONADOTROPINAS

Como se ha expresado previamente, el incremento del fotoperiodo durante las estaciones de primavera y verano provoca disminución de la secreción de melatonina. Esta señal influye positivamente sobre los pulsos de liberación de GnRH hipotalámica, que a su vez controla la liberación diferencial de gonadotropinas (*Ginther, 1992*). De forma genérica, los pulsos de GnRH que se producen cada 45 min originan predominantemente secreción de LH, mientras que los que se establecen cada 6 h

estimulan la secreción preferencial de FSH. La elevada frecuencia de pulsos de GnRH (2 pulsos por hora) durante el estro favorece el incremento de LH y disminuye la FSH, mientras que la disminución de la frecuencia a 2 pulsos por día origina aumento de FSH e inhibición de LH (*Alexander e Irvine, 1993*). Estos acontecimientos endocrinos permiten la aparición de las oleadas de crecimiento folicular, la síntesis de E2 y la ovulación durante el estro, y aparición del CL unido a la liberación de P4 durante el diestro (*Youngquist y Threlfall, 2007*).

2.1.3.3.2.-HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE

Como se ha expresado previamente, la FSH describe dos tipos de patrones de secreción durante el ciclo estral en la yegua: uni o bimodal. El patrón bimodal se produce frecuentemente durante el periodo de transición primaveral y estación ovulatoria. El primer pico de FSH aparece entre el día 8 y el 14 del ciclo, momento en el cual el folículo de mayor tamaño alcanza un diámetro de 13 mm (*Gastal y cols., 2000*). Este primer aumento precede al inicio de la desviación y se relaciona con la síntesis creciente de inhibina por parte del folículo de mayor tamaño (*Ginther y cols., 2004; 2005; Medan y cols., 2004; Kenny y Woodruff, 2006*) y persiste hasta que el folículo prevulvatorio alcanza un diámetro de 22 mm. El segundo pico de FSH comienza el día 15 del ciclo y se hace necesario para completar el desarrollo del folículo preovulvatorio (*Ginther y Bergfelt, 1993; Gastal y cols., 2000; Medan y cols., 2004*). A diferencia del patrón bimodal, el primer pico de FSH estaría ausente en el patrón unimodal (*Alexander y cols., 1993*). En este último patrón los niveles permanecen bajos durante el estro, se elevan en momentos cercanos a la ovulación, manteniéndose incrementados durante el diestro (*Medan y cols., 2004*).

La FSH también interviene en la aparición de receptores para la LH a nivel del folículo preovulvatorio (*Irvine y Alexander, 1993; Reichert, 1994*). Al inicio del crecimiento folicular, los bajos niveles de estradiol ejercen un efecto feedback negativo sobre el EHH, controlando la liberación tónica o basal de gonadotropinas. Este mecanismo controla el crecimiento folicular y la síntesis de E2 de forma continua, evitando la sobreestimulación ovárica. Tras el periodo de crecimiento folicular, una vez seleccionado el folículo dominante, los niveles de E2 e inhibina se incrementan significativamente. Dicha elevación de E2 es la responsable de las modificaciones características del aparato genital y de los signos de celo durante el estro. Asimismo, esta respuesta ejerce un efecto feedback positivo sobre el EHH, favoreciendo la aparición de la oleada preovulvatoria de LH, necesaria para que se desencadene la ovulación. Adicionalmente, los efectos estimulatorios del E2 sobre la LH unidos a la acción inhibitoria de la inhibina sobre la FSH

crean el microambiente ideal para la maduración final del ovocito, inhibiendo el desarrollo de folículos inmaduros (*Bergfelt, 2000*).

2.1.3.3.3.-HORMONA LUTEINIZANTE

Los niveles de LH incrementan gradualmente desde el día -5 hasta el día de la ovulación, momento en el que alcanza el pico máximo (*Evans y cols., 1979; Aurich, 2011*). Como se ha citado con anterioridad, la oleada preovulatoria se produce como consecuencia del mecanismo feedback positivo ejercido por las concentraciones de E2 secretadas por las células de la granulosa del folículo preovulatorio a nivel adenohipofisario. No obstante, el pico de E2 se alcanza 2 días antes que el de LH. Durante el diestro la LH se libera de forma pulsátil, con una frecuencia de 1,4 pulsos cada 24 horas y una duración de 20-40 minutos a nivel central o 2-4 h por pulso a nivel periférico (*Pantke y cols., 1991*), por lo que la secreción de P4 es mantenida por niveles basales de LH. El declive de LH al final del diestro se produce como consecuencia del efecto combinado de la disminución del feedback positivo ejercido por los estrógenos y el resurgimiento del feedback negativo inducido por la P4 sobre el EHH. Esta gonadotropina no sólo participa en el desarrollo y maduración de los folículos primarios sino también en el desarrollo y mantenimiento adecuado del CL durante el periodo luteal (*Ginther y cols., 2004; 2005; 2008; Gastal, 2009*).

Se ha hipotetizado que la persistencia de elevados niveles de LH tras la ovulación podría inducir la presencia de ovulaciones diestrales, que pueden tener lugar 3-5 días después de la primera. No obstante, estas ovulaciones no suelen acompañarse de signos de celo, hecho relacionado con los efectos supresores de la P4 sobre el comportamiento estral (*Hughes y cols., 1985; Youngquist y Threlfall, 2007*).

2.1.3.3.4.-ESTRADIOL-17 β

La capacidad de síntesis de estrógenos es dependiente del efecto de la FSH sobre las células de la granulosa. En ausencia de P4, los estrógenos comienzan a ser secretados activamente por parte del folículo preovulatorio 5-7 días antes de la ovulación. Este acontecimiento coincide con el momento de la desviación, alcanza el pico máximo dos días previos a la ovulación (*Amer y cols., 2008; Ginther y cols., 2008; Gastal y cols., 2009*), y será responsable de la liberación preovulatoria de LH. Tras la ovulación, los niveles comienzan a disminuir paulatinamente a partir de las 48 h, alcanzando niveles basales hacia el 5º día post-ovulación (*Bergfelt y cols., 2001; Ginther y cols., 2004, 2005; Gouraninezhad y cols., 2006; Ginther y cols., 2007*).

Aunque de forma genérica las concentraciones de estrógenos están directamente relacionadas con el grado de actividad ovárica, receptividad sexual y las modificaciones del tracto reproductor durante el estro (*Illera y cols., 1993; Pycock y cols., 1995; Bergfelt, 2000; Bollwein y cols., 2002; Bragg Wever y cols., 2002; Ginther y cols., 2004; Medan y cols., 2004; Crowell-Davis, 2007; Amer y cols., 2008; Honnens y cols., 2011*), no se evidencia una relación directa entre la intensidad del edema endometrial y los niveles de dicho esteroide. Esta situación es mucho más clarificadora respecto a la P4. De hecho, el edema tiene lugar cuando los niveles de P4 son inferiores a 1 ng/ml, por lo que esta hormona podría ser la responsable en principio de la intensidad del edema, entre otros cambios comportamentales y morfológicos del cervix y útero (*Daels y Hughes, 1993; Illera y cols., 1993; Amer y cols., 2008*). No obstante, en el momento de la ovulación se establecen correlaciones inversas entre los niveles de E2 y FSH relacionadas con el efecto feedback negativo ejercido por la inhibina, como se ha referido anteriormente (*Medan y cols., 2004*).

2.1.3.3.5.-PROGESTERONA

La actividad esteroideogénica de la P4 depende de la acción de la LH sobre las células de la teca. Como se ha especificado anteriormente, los niveles de P4 son inferiores a 1 ng/ml durante el estro (*Ginther, 1992; Squires, 1993; Gouraninezhad y cols., 2006; Amer y cols., 2008*). Tras la ovulación, incrementan progresiva y significativamente hasta el 5º o 6º día post-ovulación, con cifras similares a las de yeguas gestantes durante los primeros 14 días de gestación (*Satué y cols., 2011*). En este momento el CL es ya plenamente funcional y los niveles se mantienen elevados hasta el día 9 (*Alegría y cols., 2001; Nagy y cols., 2004; Gouraninezhad y cols., 2006; Honnens y cols., 2011*), en concordancia con el máximo diámetro alcanzado por el CL (*Nagy y cols., 2004; Bergfelt y Adams, 2007; Aurich, 2011*).

No obstante, las concentraciones periféricas de P4 son altamente variables entre yeguas. Dicha variabilidad se ha relacionado con la capacidad secretora del CL y con la tasa de catabolismo hormonal. Tal vez este hecho pueda explicar las diferencias en los niveles de P4 entre ponis y yeguas durante los primeros 5 días del periodo luteal (*Nagy y cols., 2004*) o entre yeguas árabes y PRE (*Vivo y cols., 1986; Vivo y cols., 1992*), a pesar de la similaridad en la duración de los ciclos estrales. Entre otros factores relacionados con las variaciones en los niveles de P4 destaca el número de ovulaciones. De hecho, ovulaciones dobles inducen mayores concentraciones de P4 que las simples (*Nagy y cols., 2004*).

La P4 inhibe la secreción y liberación pulsátil de GnRH y LH, aunque no modifica el patrón de FSH (*Daels y Hughes 1993; Bollwein y cols., 2002; Ginther y cols., 2004; Crowell-Davis, 2007*). Este acontecimiento, a diferencia de lo que acontece en otras especies, permite una nueva oleada de crecimiento folicular y en algunos casos la presencia de ovulaciones diestrales, relacionadas con elevados niveles de esta hormona (*Irvine y cols., 1998; Bergfelt, 2000; Donadeu y Pedersen, 2008; Gastal, 2009; Ginther, 2011*). Tras la lisis del CL a finales del diestro la P4 se reduce drásticamente a niveles inferiores a 1 ng/ml, favoreciendo de nuevo el retorno al estro en la yegua (*Daels y Hughes, 1993; Gouraninezhad y cols., 2006; Kelley, 2006*).

2.1.3.3.6.-PROSTAGLANDINA F2 α

En ausencia de gestación la vida media útil del CL es controlada por la liberación de PGF2 α de origen endometrial, estableciéndose un patrón bimodal de secreción alrededor del día 13 a 16 del diestro. Mientras que el primer pico precede en 4 horas al declive de P4, el segundo se produce durante y después de la luteolisis. La luteolisis implica disminución del aporte sanguíneo, infiltración leucocitaria, alteración de las células luteínicas y pérdida de la capacidad esteroidogénica mediante mecanismos apoptóticos o no apoptóticos destinados a desintegrar el CL y en consecuencia, la secreción de P4 (*Daels y Hughes, 1993; Shand y cols., 2000; Ginther, 2011; Ginther y Beg, 2011*).

2.2.-SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA

El SRAA conforma uno de los principales mecanismos reguladores de la homeostasis hidroelectrolítica y la presión arterial sistémica, con especial relevancia sobre la presión de perfusión renal (*Otte y Spier, 2009*). Los componentes de la cascada de este sistema engloban cuatro órganos esenciales: el riñón, productor de REN, el hígado, lugar de síntesis de AOPEN, el lecho vascular pulmonar, sobre el que actúa la ECA encargada de transformar la ANG-I en ANG-II y la corteza adrenal, lugar en el que se produce la síntesis de ALD. La ANG-II, es la molécula efectora más potente de dicho sistema ejerciendo un intenso efecto vasoconstrictor tanto a nivel sistémico como central (*Atlas, 2007; Cunningham y Klein, 2009*).

2.2.1.-COMPONENTES DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA

2.2.1.1.-RENINA

La REN es una aspartil proteasa altamente específica producida por las células mioepiteliales del aparato yuxtaglomerular renal, localizadas principalmente en las paredes de las arteriolas aferentes y eferentes, inmediatamente proximales al glomérulo renal. Esta enzima cataliza la conversión de AOPEN a ANG-I (*Cunningham y Klein, 2009; Otte y Spier, 2009*).

A nivel del retículo endoplásmico rugoso (RER) de las células yuxtaglomerulares la REN se sintetiza como precursor inactivo o PROREN (*Otte y Spier, 2009*), utilizando dos rutas alternativas. En la primera ruta, de tipo regulada, la PROREN una vez sintetizada, se almacena en densos gránulos secretorios a nivel del aparato de Golgi, sobre la que actúa la enzima tiol proteasa, transformándose en REN activa. La segunda ruta es de tipo constitutiva, en la cual, la PROREN una vez sintetizada, inmediatamente se libera. Ambas formas son liberadas al espacio periarterial conectivo laxo que rodea a las arteriolas, incluyendo los vasos linfáticos. La proporción de REN inactiva, en sus dos formas, almacenada y secretada, es 2 a 5 veces superior a la de REN activa (*Sealey y cols., 1996; Atlas, 2007; Cunningham y Klein, 2009*).

Si bien el riñón continúa siendo el principal órgano productor de REN, el empleo de técnicas de biología molecular e inmunología, ha puesto de manifiesto que la mayoría de los componentes del SRAA se expresan, en grado variable, en diferentes tejidos, como glándulas salivares, útero, testículos, adrenales, vasos sanguíneos y cerebro (*Yoshimura, 1997; O'Mahony y cols., 2000*). Parte de la REN que se encuentra en plasma, riñón, útero y líquido amniótico corresponde a la REN inactiva y puede ser activada *in vitro* mediante tratamientos con frío en medio ácido o determinadas enzimas (*Van den Eijnden y cols., 2001*).

La concentración de REN plasmática hace referencia a la medida de la cantidad de REN en plasma y de sustrato exógeno estándar. La ARP es el promedio de las múltiples formas presentes y se refiere a la velocidad de formación de ANG en plasma mediante incubación a 37°C y pH 7,5 tras la desaparición de la enzima. La medida refleja la actividad de la enzima *in vivo* y es dependiente de la cantidad de enzima y sustrato presente en plasma. En équidos adultos sanos se han mostrado valores basales de ARP comprendidos entre 0,16±0,02 (*Guthrie y cols., 1980*) y 1,9±1,0 ng/ml/h (*McKeever y cols., 1992*).

El control de la secreción de REN condiciona la actividad y funcionamiento del SRAA. Existen diversos mecanismos interdependientes implicados en el control de la secreción de REN que se describen a continuación:

1) Mecanismo de la mácula densa. La región de la mácula densa de la rama gruesa ascendente del Asa de Henle está muy próxima a las células yuxtaglomerulares. De esta forma, la reducción de los niveles de Na y potasio (K) a nivel del túbulo distal estimula directamente la secreción de REN y viceversa (*Mckeever y Malinowski, 1999*).

2) Mecanismo del baroreceptor. El aparato yuxtaglomerular, integrado por las células yuxtaglomerulares y la mácula densa, incluye un mecanismo baroreceptor a nivel de la arteriola renal aferente que detecta cambios en la presión de perfusión renal. En situaciones de hipoperfusión renal, la disminución de estiramiento de la pared de la arteriola genera hiperpolarización de las células yuxtaglomerulares, disminución intracelular de calcio y aumento de la secreción de REN. Determinadas situaciones clínicas que cursan con pérdida de sangre o depleción de Na (*Otte y Spier, 2004*) estimulan de forma compensatoria la secreción de ANG-II y ALD. La ALD a su vez incrementa la reabsorción de Na y fluidos a nivel renal, ayudando a restaurar el volumen de líquido extracelular y la presión sanguínea (*Atlas, 2007; Cunningham y Klein, 2009*).

3) Estimulación nerviosa simpática. Las células glomerulares están inervadas por gran cantidad de fibras nerviosas simpáticas β -adrenérgicas. La estimulación potente de los receptores β_1 adrenérgicos produce vasoconstricción de las arteriolas renales y disminuye el flujo sanguíneo renal. Ambos mecanismos estimulan la secreción de REN, de forma compensatoria (*Brown, 2006; Cunningham y Klein, 2009*).

4) Mecanismos endocrinos y paracrinos. Diversas hormonas locales y sistémicas, como las prostaglandinas (PGE_2) y prostaciclina (PGI_2) y el ácido araquidónico exógeno estimulan la secreción de REN. Dicho efecto es independiente de otros mecanismos que controlan la secreción de REN, como el efecto de retroalimentación negativa por acción directa de la ANG-II sobre las células yuxtaglomerulares. Por el contrario, otras hormonas como la endotelina y la vasopresina inhiben la síntesis de REN (*Brown, 2006; Atlas, 2007*).

5) Activación de la adenilato ciclasa (AMP cíclico). Algunos compuestos que activan la adenilato ciclasa o AMP cíclico (AMPc), segundo mensajero de la síntesis de REN, como los agonistas β -adrenérgicos, PGE_2 e I_2 , dopamina, histamina y hormona paratiroidea, también participan en la secreción de REN. Por otro lado, las concentraciones intracelulares de calcio también juegan un papel crucial sobre la secreción de REN. Así,

la ANG-II, vasopresina y la adenosina aumentan los niveles intracelulares de calcio e inhiben la secreción de REN debido a su efecto directo sobre dicho catión (*Brown, 2006*).

2.2.1.2.-ANGIOTENSINÓGENO

El AOGEN es una α_2 globulina circulante en el plasma, sobre la que actúa la REN, dando lugar a la síntesis de ANG-I. Se trata de un tetradecapéptido sin actividad fisiológica destacada, que rápidamente se transforma en ANG-I. Si bien esta proteína es producida principalmente en el hígado, otros tejidos que secretan ANG-II también expresan ARNm del AOGEN como, riñón, cerebro, corazón, pituitaria y tejido adiposo, entre otros (*Morgan et al., 1996; Cunningham y Klein, 2009*).

En condiciones de salud la secreción de sustrato es constante y en el hígado no aparecen depósitos significativos. No obstante, las concentraciones circulantes de AOGEN limitan la velocidad de reacción para la formación de ANG, y por tanto, la efectividad biológica del SRAA. Se han descrito valores medios de $0,69 \pm 0,10$ $\mu\text{g/ml}$ de AOGEN en équidos en condiciones fisiológicas (*Nielsen y cols., 1991; Forhead y cols., 2000*).

Entre los mecanismos que estimulan la producción de AOGEN se citan la acción de los estrógenos y otros esteroides sexuales, glucocorticoides, hormonas tiroideas, interleucina-1 (IL-1), factor de necrosis tumoral (FNT) y la ANG-II. También, se han mostrado niveles elevados durante la gestación, en presencia de infección y lesión tisular y de forma contraria, aparecen deprimidos en procesos de insuficiencia adrenal. Dentro de los mecanismos de regulación de la síntesis de AOGEN destaca el efecto de retroalimentación mediado por el propio SRAA, mediante el cual el aumento de ANG-II disminuye los niveles circulantes de AOGEN (*Klett y Hackenthal, 1987; Morgan et al., 1996*).

2.2.1.3.-ANGIOTENSINA I

La ANG-I es un decapeptido producto de la acción de la REN sobre el AOGEN. Presenta actividad fisiológica limitada. Cuando la enzima de conversión de la ANG (ECA) permanece inhibida, puede ejercer acciones similares a la ANG-II, pero muy inferiores en cuanto a sus efectos vasoconstrictores. Se han estimado rangos de 0,5-2,5 ng/ml de ANG-I en el caballo (*Guthrie y cols., 1980*). Se sabe que la secuencia de aminoácidos de la ANG-I equina es similar a la de humanos (*Arakawa y cols., 1967*). Este hecho sugiere

similitud de receptores y lugares de unión, así como un grado de respuesta similar en ambas especies.

2.2.1.4.-ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA

La ECA o convertasa es una dipeptidil carboxipeptidasa poco específica, que inactiva la bradiquinina y favorece la conversión del decapeptido ANG-I en el octapéptido ANG-II (*O'Connor y cols., 2002; Skidgel y Erdős, 2004*).

Existen dos formas enzimáticas: una secretora, a nivel plasmático y otra tisular, alojada en las células endoteliales del pulmón, lugar donde se produce la mayor tasa de conversión a ANG-II y en las células epiteliales del túbulo contorneado proximal, distal y del glomérulo renal, en los que segmenta las proteínas filtradas para su posterior reabsorción. La actividad de la ECA en plasma es limitada, siendo su proporción inferior al 10%, por lo que no es un factor limitante de la velocidad de activación del SRAA (*Carey y Sigary, 2003*).

La ECA también actúa sobre otros sustratos, ampliando sus funciones en diferentes aspectos fisiológicos como, metabolismo neuronal, hematopoyesis, digestión y reproducción. A tal fin, la distribución en el organismo es amplia, detectándose en plasma, intestino, riñón, corazón, pulmón, cerebro, testículo, ovario y en general, en todo el lecho vascular (*Ball y cols., 2003; Coomer y cols., 2003*). Así, la ECA ejerce efectos dipsógenos e hipertensores a nivel del sistema nervioso central (SNC), estimulando al mismo tiempo la secreción de vasopresina. A nivel de la glándula adrenal también favorece la secreción de catecolaminas (*Carey y Sigary, 2003*).

En caballos adultos sanos se han mostrado valores medios de ECA de 64 ± 13 (*Tillman y Moore, 1989; Costa y cols., 2011*) y en ponis de 43 ± 4 μl (*Forhead y cols., 2000*). Es interesante destacar la escasa actividad de la ECA así como los bajos niveles de ARP documentados en el caballo en condiciones normales (*Guthrie y cols., 1982*) respecto a otras especies animales (*Kaplan y cols., 1984*). No obstante, la liberación prematura de ECA a nivel pulmonar relacionada con el aumento de CORT cercano al parto en el feto equino, indica a su vez el grado de maduración del SRAA (*O'Connor y cols., 2006*).

Bajo ciertas condiciones fisiológicas, como ejercicio agudo (*Costa y cols., 2011; De Mello y cols., 2011*) o patológicas, como endotoxemia, los valores medios de ECA disminuyen (*Tillman, 1987*), indicando la reducción en la liberación a partir del endotelio pulmonar, extravasación de la enzima hacia el compartimento intersticial debido al incremento de la permeabilidad vascular o modificaciones en la actividad enzimática local.

Otras condiciones patológicas que cursan con incremento de IL-1 y FNT, insuficiencia adrenal, hipotiroidismo y deficiencia de insulina también se han relacionado con disminución de la expresión de ARNm del AOPEN. La elevación sostenida de ECA en el tiempo, como ocurre en la gestación, síndrome de Cushing o en el tratamiento con glucocorticoides se relaciona con hipertensión. No obstante, la estimulación crónica del AOPEN puede compensarse parcialmente con la reducción de la secreción de REN (Carey y Sigary, 2003).

2.2.1.5.-ANGIOTENSINA II

La ANG-II es un octapéptido procedente de la actuación enzimática de la ECA sobre la ANG-I. Su vida media en circulación periférica es de 2 minutos, aproximadamente. Se trata de un potente vasoconstrictor, que inactiva la degradación de la bradiquinina, componente de actividad vasodilatadora. Ambos procesos colaboran de forma directa en la regulación del tono vascular y la función cardíaca (Vinson y cols., 1997; Stanton, 2003).

Existen otras rutas alternativas que transforman la ANG-I en ANG-II y que no requieren de la presencia de ECA. Entre ellas se citan la participación de enzimas del tipo quimasas, angiotensinasas, catepsinas, endopeptidasas y toninas. La amplia distribución celular y regional de estas enzimas, principalmente a nivel cardíaco y vascular, indican la implicación de la ANG-II en los distintos procesos fisiopatológicos (Chen y cols., 2002; Katugampola y Davenport, 2002; Reudelhuber, 2005).

La actuación de estas enzimas sobre la ANG-II da lugar a fragmentos parcialmente activos denominados heptapéptidos. Concretamente, la angiotensinasa se presenta en plasma, glóbulos rojos, cerebro y riñón, y se encarga de la captación e hidrólisis de ANG-II a ANG-III y ANG-IV (Padia y cols., 2008). Las aminopeptidasas también se sintetizan en la placenta (Berger y Langhans, 1967) y son las responsables del incremento de ANG-II durante el segundo periodo en gestaciones normales (Alhenc-Gelas y cols., 1986; Valdés y Corthorn, 2011).

La ANG-III posee la mitad de la actividad vasoconstrictora de la ANG-II y es un potente estimulador de la secreción de ALD. Se considera la molécula efectora más importante en el control de la presión arterial a nivel cerebral (Dupont y Brouwers, 2010). La ANG-IV tiene una relación especial con la memoria y otras funciones a nivel cerebral. La ANG (1-7) deriva de la actuación de diversas endopeptidasas sobre ANG-I, ejerce efectos vasodilatadores, no es dipsogénico, ni estimulador de la secreción de la ALD (Ferrario y cols., 1998; Reudelhuber, 2005).

La ANG-II se considera un potente vasoconstrictor a nivel orgánico, 40 veces más potente que la noradrenalina. Los efectos vasopresores los ejercen directamente vía estimulación simpática adrenal e inhibición del control parasimpático (*Stanton, 2003; Reudelhuber, 2005*).

Sus receptores se encuentran ampliamente distribuidos en el organismo, aunque los órganos blanco fundamentales son el riñón, glándulas adrenales, SNC y periférico, y vasos sanguíneos. Existen otras fuentes locales de síntesis de ANG-II, como corazón, vasos sanguíneos, riñón, glándula adrenal, hipófisis, tejido adiposo, testículos, ovarios y piel (*Atlas, 2007*). Se trata de mecanismos de tipo paracrino a nivel local, encargados de funciones relacionadas específicamente con dichos órganos (*Kumar y cols., 2008; Rosivall, 2009*).

El nivel de complejidad de las funciones del SRAA y concretamente de la ANG-II, viene determinado por la amplia variedad de receptores con los que interacciona, AT1, AT2, AT3 y AT4 (*Stanton, 2003*). La distribución de dichos receptores es altamente heterogénea, reflejando las diferencias esenciales en sus funciones. La mayoría de las funciones atribuidas a la ANG-II parecen ser mediadas vía receptor AT1, que se expresa en las glándulas suprarrenales, cerebro, riñón, músculo liso vascular y corazón (*Alwan y cols., 2005; Billet y cols., 2008*), a través del cual desarrolla sus efectos agonistas a nivel cardiovascular, renal, sistema nervioso simpático (SNS) y corteza adrenal. A nivel cardiovascular, induce vasoconstricción, incremento de la presión arterial, favoreciendo la contractibilidad e hipertrofia cardíaca. Sus efectos a nivel renal vienen dados por la retención tubular de Na e inhibición de la síntesis de REN y a nivel de la corteza adrenal, colabora en la síntesis de ALD. Asimismo, este receptor también interviene en la respuesta inflamatoria y estrés oxidativo (*Carey y Siragy, 2003; Ferrario, 2006; Kumar y cols., 2008*).

Los receptores AT2 son abundantes durante la vida fetal en el cerebro, riñón y otros tejidos, decreciendo considerablemente durante la vida postnatal. Sin embargo, existe cierta evidencia de que a pesar de su baja expresión en el adulto, sus efectos son básicamente supresores, vasodilatadores, antiproliferativos y proapoptóticos en el músculo liso muscular, natriuréticos, participan en la regeneración nerviosa, ejerciendo una respuesta protectora (*Wintour y cols., 1999; Atlas, 2007*). La activación de este receptor también puede favorecer la reabsorción de Na a nivel del túbulo proximal y estimular la conversión de PGE₂ a PGF₂α (*Carey y Sigary, 2003; Ferrario, 2006*). Finalmente, se han descrito otros dos tipos de receptores, AT3 y AT4, que reaccionan específicamente con los fragmentos III y IV de la ANG. Mientras que la función del receptor AT3 permanece desconocida, el AT4 se expresa en corazón, pulmón, riñón,

cerebro e hígado y participa en la liberación del factor inhibidor activador de plasminógeno 1 (PAI-1) (*Stanton, 2003; Fyhrquist y Saijonmaa, 2008*).

2.2.1.5.1.-EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA ANGIOTENSINA II

Una vez la ANG-II se une al receptor específico se desencadenan diversos efectos a nivel sistémico y tisular, que conllevan al control de la homeostasis hidroelectrolítica. Las funciones principales se describen a continuación (*Van Rodijen y cols., 2002; Cunningham y Klein, 2009*):

2.2.1.5.1.1.-A NIVEL RENAL

Los principales efectos de la ANG-II a nivel renal se ejercen a diferentes niveles (*Hall y cols., 1999; Cunningham, 2003; Atlas, 2007*):

a) Acciones vasculares renales: una de las funciones más importantes de la ANG-II es la autorregulación de la tasa de filtración glomerular (TFG) en respuesta a los cambios en la perfusión renal. Dichas actividades son producidas a través de modificaciones en la resistencia vascular y el tono de las células mesangiales. La ANG-II aumenta la resistencia en la arteriola eferente en casos de hipoperfusión renal, aunque no afecta a la resistencia de la arteriola aferente. Este dominio de resistencia de la arteriola eferente sobre la aferente induce vasoconstricción e incremento de la TFG. Este péptido también estimula el crecimiento de la pared de los vasos sanguíneos, disminuyendo la luz en la vasculatura renal (*Otte y Spier, 2004; Atlas, 2007*).

b) Acciones glomerulares: la ANG-II induce vasoconstricción preferencial en la arteriola eferente, favoreciendo el aumento de la presión intraglomerular y la permeabilidad a las proteínas. La ANG-II también estimula el depósito de fibronectinas, lamininas y colágeno, reduciendo la capacidad de filtración glomerular (*Schiepati y Remuzzi, 2003*).

c) Acciones mesangiales glomerulares: a nivel mesangial, la ANG-II ocasiona liberación de citocinas, activación macrofágica, proliferación de células mesangiales y la formación de matriz mesangial, efectos también relacionados con la disminución de la superficie total de filtración glomerular (*Fawcett, 1997; Schiepati y Remuzzi, 2003*).

d) Acciones tubulares: la ANG-II a través de sus receptores situados a nivel del túbulo contorneado proximal y el segmento grueso de la rama ascendente del asa de Henle ejerce un mecanismo dosis dependiente. Así, cuando la concentración de ANG-II disminuye, se produce retención de Na y agua, y dosis elevadas evocan diuresis y natriuresis (*Marunaka, 1997; Otte y Spier, 2004; Atlas, 2007*).

2.2.1.5.1.2.-A NIVEL DE LA CORTEZA ADRENAL

La acción primordial de la ANG-II es promover la síntesis y liberación de ALD a nivel de la corteza adrenal en estados de hipovolemia o hiponatremia. La ALD actúa a nivel del túbulo contorneado distal y colector, aumentando la reabsorción de Na, excretando aunque en menor proporción K e hidrogeniones. El incremento de la natremia induce elevación de la osmolaridad plasmática y liberación de la hormona antidiurética (ADH). La ADH favorece la retención de agua, potenciando al mismo tiempo las acciones vasoconstrictoras de la ANG-II (*Funder, 2002; Atlas, 2007*).

2.2.1.5.1.3.-EFECTOS VASCULARES SISTÉMICOS

La ANG-II actúa directamente sobre las células vasculares arteriales, produciendo vasoconstricción, aumento de la resistencia periférica y de la presión arterial. A nivel arteriolar y de pequeñas arterias ejerce una función hipertrófica, con aumento del espesor de las paredes y reducción de la luz. Asimismo, la ANG-II provoca una reacción inflamatoria en las células musculares vasculares, debido a la estimulación de citoquinas y determinados factores nucleares (*Funder, 2002; Cunningham, 2003; Atlas, 2007*). A nivel intestinal la ANG-II actúa como un potente vasoconstrictor del lecho mesentérico, incrementando la reabsorción de Na y agua a nivel del intestino menor (*Levens, 1985*) y colon (*Clarke y cols., 1990*).

Algunos estudios realizados en el caballo han descrito la implicación del SRAA en el desarrollo de la laminitis (*Lindpaintner y cols., 1988*). La laminitis aguda es un proceso patológico causado por inflamación y necrosis de las estructuras laminares sensibles del casco, relacionada con vasoconstricción de la microvasculatura laminar e hipertensión sistémica (*Clarke y cols., 1982*). En casos severos se ha documentado incremento de REN y ARP asociada a sobrecarga de hidratos de carbono, disminución del VP (VP), hipocalemia e incremento sistémico de ALD (*Hood y cols., 1993*).

2.2.1.5.1.4.-A NIVEL CARDÍACO

A nivel de la circulación coronaria, la ANG-II produce vasoconstricción y potencia el efecto de las catecolaminas, siendo responsable de las arritmias durante procesos isquémicos o de reperfusión. A nivel del cardiocito es inotrópico débil, y responsable de la hipertrofia cardíaca (*Cingolani y cols., 2006; Atlas, 2007; Cunningham y Klein, 2009*).

2.2.1.5.1.5.-A NIVEL CEREBRAL

A nivel cerebral, la ANG-II induce acción dipsogénica, estimulación simpática central y aumento de la liberación de ADH. También se le ha atribuido un papel como agente neurotransmisor o modulador (*Hall y cols., 1999; Cunningham y Klein, 2009*).

2.2.1.5.1.6.-SISTEMA NERVIOSO

Existen receptores de ANG-II en el SNS tanto a nivel pre como post-sináptico. A nivel periférico, la ANG-II facilita la transmisión simpática, incrementando la liberación e inhibiendo la recaptación de norepinefrina en las terminaciones nerviosas adrenérgicas. Este péptido también estimula la liberación de noradrenalina y vasopresina, potenciando sus efectos vasoconstrictores (*Hall y cols., 1999; Cunningham y Klein, 2009*). Debido a su efecto catabólico, la ANG-II participa en procesos de anorexia central y disminución de peso (*Berry y Clark, 2000*).

2.2.1.5.1.7.-PIEL

La ANG-II estimula la síntesis de colágeno e induce hipertrofia en las células musculares lisas vasculares. También, favorece los fenómenos de reparación tisular, actuando sobre la proliferación fibroblástica (*Brilla y cols., 1995*).

2.2.1.6.-ALDOSTERONA

La ALD es un mineralocorticoide de tipo esteroideo secretado por las células de la zona glomerulosa de la corteza adrenal. No obstante, otros tejidos capaces de sintetizar ANG-II a nivel cardíaco, vascular y cerebral también sintetizan ALD (*Harris, 1993*). Posee el 95% de la actividad mineralocorticoidea adrenal total. Circula en sangre en forma libre o bien unida a proteínas y se metaboliza a nivel renal y hepático (*McKeever y Hinchcliff, 1995; McKeever, 2002; McKeever y Gordon, 2004*). Se ha hipotetizado que la estructura química de la ALD en el caballo es similar a la del hombre (*Michaux y cols., 1987; Harris, 1993*), por lo que cabe esperarse una funcionalidad similar en ambas especies.

La producción de ALD está regulada por varios factores, alguno de los cuales estimulan y otros inhiben la síntesis. Entre los factores estimulantes destacan la ACTH, Na, K y REN. La ACTH se considera uno de los estímulos más potentes para la liberación de ALD. El K actúa directamente sobre las células de la glomerulosa de la corteza

adrenal, causando despolarización, incremento de calcio y AMPc intracelular, y secreción de ALD (McKeever y cols., 1992; Cunningham y Klein, 2009).

No obstante, el SRA es el factor más importante en el control de la secreción de ALD. Las células mioepiteliales yuxtaglomerulares encargadas de la liberación de REN son sensibles a la presión, y liberan sustrato cuando la presión en la arteria aferente disminuye. La REN actúa sobre el AOPEN, generando ANG-I, la cual sirve como sustrato a la ECA, convirtiéndola en ANG-II, que actúa a través del receptor AT1, provocando la secreción sostenida de ALD (McKeever y cols., 1992; Harris, 1993; Cunningham y Klein, 2009). Entre los factores inhibidores de la secreción de ALD destacan principalmente la dopamina y el péptido atrial natriurético (ANP) (Hollis y cols., 2008; Gildea, 2009).

En équidos adultos sanos los valores basales de ALD oscilan entre 6 y 82 pg/ml, con una media de 48 ± 16 pg/ml (McKeever y cols., 1992). Guthrie y cols. (1980) mostraron valores medios de ALD comparables a los de humanos en dietas de 100 mEq/l de sodio, estimando un rango de 48,50 a 287,56 pg/ml. Recientemente, se han presentado aldosteronemias superiores en yeguas gestantes (Satué y cols., 2011), potros menores de un año (Muñoz y cols., 2012) y caballos de resistencia en reposo (Muñoz y cols., 2007; 2010, b, c).

De forma genérica, la ALD juega un papel determinante en el mantenimiento del volumen sanguíneo y la presión arterial. Los principales efectos fisiológicos atribuidos a la ALD, se describen a continuación (Jansson y cols., 2002; Cunningham, 2003; Otte y Spier, 2009; Cunningham y Klein, 2009; Jansson y cols., 2010):

2.2.1.6.1.-EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA ALDOSTERONA

2.2.1.6.1.1.-A NIVEL RENAL Y CIRCULATORIO

a) Reabsorción tubular de sodio y secreción de potasio. A nivel del túbulo colector y distal principalmente, la ALD se difunde pasivamente al interior. Una vez en el citoplasma celular, se combina con una proteína receptora altamente específica. Este complejo ALD-receptor, penetra por difusión hacia el interior del núcleo, donde sobre determinadas porciones de ADN, inducirá la formación de ARNm. El ARNm de forma conjunta con los ribosomas, activa la síntesis proteica relacionada con el transporte de Na y K. Dichas proteínas contienen enzimas de transporte de membrana, necesarias para el intercambio de Na, K e hidrogeniones (Atlas, 2007; Cunningham y Klein, 2009; Otte y Spier, 2009).

Una de las enzimas implicadas es la sodio-potasio-adenosin trifosfatasa, parte integrante de la bomba sodio-potasio a nivel de las membranas basolaterales de las

células tubulares renales. Así, la ALD favorece la conservación de Na en el líquido extracelular (LEC), excretando al mismo tiempo K e hidrogeniones vía urinaria (*Otte y Spier, 2009; Jansson y cols., 2002; 2010; McKeever, 2011*).

b) Volumen de líquido extracelular y tensión arterial. Aunque la ALD posee un potente efecto reductor de la excreción de Na a nivel renal, la concentración en el LEC se eleva muy poco. Este mecanismo se debe a que cuando el Na es absorbido a nivel tubular, existe una reabsorción osmótica simultánea de cantidades casi equivalentes de agua. Por tanto, el volumen de LEC aumenta casi tanto como el de Na retenido, conduciendo a un incremento de la tensión arterial. Cuando la secreción de ALD es nula, se pierden elevadas cantidades de electrolitos por la orina, lo cual disminuye la cantidad de cloruro sódico y el volumen de LEC, incrementándose al mismo tiempo la concentración en plasma de iones K (*Guyton y Hall, 1996; Otte y Spier, 2009*).

Sin embargo, la pérdida urinaria excesiva de iones K debido al exceso de ALD produce hipocalcemia. Cuando la concentración de iones K desciende a menos de la mitad o a la tercera parte de los niveles fisiológicos, a menudo aparece debilidad muscular intensa, causada por la alteración de la excitabilidad eléctrica de las membranas de las fibras nerviosas y musculares, impidiendo la transmisión de los potenciales normales de acción (*Jansson y cols., 2002; 2010*).

c) Secreción tubular de hidrogeniones. Aunque la ALD origina principalmente excreción de K en intercambio con la reabsorción de Na a nivel tubular, también produce secreción tubular de hidrogeniones, conduciendo a un cierto estado de alcalosis leve (*McKeever, 2002; 2011; Otte y Spier, 2009*).

2.2.1.6.1.2.-GLÁNDULAS SUDORÍPARAS Y SALIVALES

En humana, la ALD ejerce los mismos efectos sobre las glándulas sudoríparas y salivales que sobre los túbulos renales. Ambos tipos de glándulas forman una secreción primaria que contiene elevadas cantidades de cloruro sódico. Gran parte de estas secreciones se reabsorben al pasar por los conductos excretores, mientras que los iones K y bicarbonato se excretan (*Jansson y cols., 2002; Otte y Spier, 2009; Jansson y cols., 2010; McKeever, 2011*).

Hasta la actualidad, los mecanismos hidroelectrolíticos de regulación a nivel de las glándulas sudoríparas dependientes de ALD no han sido analizados en el caballo, aunque se supone que el elevado contenido de Na en el sudor, podría indicar una falta de respuesta a la ALD a nivel de las glándulas sudoríparas. De hecho, la administración

experimental de ALD en équidos induce reducción de la pérdida de Na tanto en heces como en orina, aunque no en el sudor (*Jansson y cols., 2002; 2011*).

2.2.1.6.1.3.-ABSORCIÓN INTESTINAL

La ALD también favorece la reabsorción de Na a nivel intestinal, y más concretamente en colon (*Clarke y cols., 1992; Willmore y Costill, 1994; McKeever, 2002*). De hecho, *Clarke y cols. (1988)* mostraron que la ALD tiene un efecto eficaz sobre la excreción renal y colónica de K, que podría modular la hipercalemia postprandial inducida por el elevado contenido en K de la dieta. En ausencia de ALD, la absorción de Na puede ser deficiente, de forma que el cloruro sódico y el agua no absorbidos producen a su vez diarrea, con la consiguiente pérdida de electrolitos y deshidratación (*Jansson y cols., 2010*).

2.3.-CORTISOL

El CORT es una hormona secretada por las células de la zona fasciculata, principalmente y reticularis, de la corteza adrenal bajo la estimulación de la ACTH. El CORT sigue un ritmo circadiano de liberación, elevándose a primeras horas de la mañana e incrementándose a últimas horas de la tarde (*Irvine y Alexander, 1994; Piccione y cols., 2001; Fazio y cols., 2009*). Debido a su participación activa en el mantenimiento de la homeostasis (*Thornton, 1985; Willmore y Costill, 1994; Ayala y cols., 2011*), los mecanismos de actuación se producen a través de las principales rutas metabólicas (*Nelson, 2000; Cunningham, 2003; Toribio, 2004*) como se describe a continuación:

2.3.1.-EFECTOS FISIOLÓGICOS DEL CORTISOL

2.3.1.1.-METABOLISMO

2.3.1.1.1.-METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS

Las hormonas glucocorticoideas son mediadores esenciales del metabolismo. Al menos el 95% de la actividad glucocorticoidea de la secreción de la corteza adrenal procede del CORT (*Cunningham, 2003; Toribio, 2004*). Al tratarse de un glucocorticoide, el CORT desempeña funciones básicas a nivel del metabolismo energético, como:

1.-Estimulación de la gluconeogénesis hepática. Esta circunstancia se produce por el incremento de la actividad de las enzimas gluconeogénicas e inhibición simultánea de las

enzimas hepáticas insulino-dependientes (*Guyton y Hall, 1996; Martin y Crump, 2003; Toribio, 2004*).

El efecto más conocido del CORT y otros glucocorticoides sobre el metabolismo es su capacidad para estimular la gluconeogénesis, que consiste en sintetizar glucosa a partir de proteínas y otras sustancias, como aminoácidos a nivel hepático. El CORT moviliza los aminoácidos desde los tejidos extrahepáticos, principalmente músculo esquelético, aumentando la disponibilidad para la gluconeogénesis hepática (*Martin y Crump, 2003*).

El CORT también estimula los efectos del glucagón y la epinefrina sobre la disponibilidad de glucosa e inhibe la acción de la insulina sobre el metabolismo energético (*Martin y Crump, 2003; Toribio, 2004*).

2.-Reducción del consumo de glucosa a nivel celular. El CORT induce una reducción moderada del consumo de glucosa a nivel celular, efecto que puede ser considerado como anti-insulínico. De esta forma, los niveles de glucosa sanguínea tienden a incrementarse debido a la inhibición que ejerce el CORT sobre la translocación del transportador citosólico de glucosa GLUT-4 a la membrana celular, decreciendo la capacidad de utilización de glucosa por los tejidos muscular y adiposo (*Cunningham, 2003; Martin y Crump, 2003*).

Otro de los posibles mecanismos que explican la menor utilización de glucosa a nivel celular, se basa en el hecho de que los glucocorticoides deprimen la oxidación de nicotinamida-adenina dinucleótido (NADH) para formar la forma reducida (NAD⁺). Debido a que el NADH debe oxidarse para permitir la glucólisis, las células no podrían utilizarlo. Tanto el incremento de la velocidad de la gluconeogénesis como la reducción moderada del consumo de glucosa a nivel celular, originan un aumento marcado de la glucemia (*Guyton y Hall, 1996; Toribio, 2004*).

2.3.1.1.2.-METABOLISMO PROTEICO

1.-Reducción de las proteínas celulares. El CORT disminuye las reservas proteicas en casi todas las células, excepto en las hepáticas (*Cunningham, 2003*).

El efecto proteolítico a nivel de los tejidos extrahepáticos resulta de la disminución del transporte de aminoácidos hacia el interior de las células, reducción de la síntesis de ácido ribonucleico (ARN) y proteínas. Este efecto aparece a nivel de los miocitos, células de la piel, tejido conectivo y hueso. Así, en animales jóvenes, un exceso en la secreción de glucocorticoides puede detener el crecimiento, debido a la inhibición de la liberación

de hormona del crecimiento, esencial para el desarrollo muscular, diferenciación y funcionalidad celular (*Martin y Crump, 2003; Toribio, 2004*).

2.-Aumento de las proteínas hepáticas y plasmáticas. Aunque a nivel celular las proteínas se reducen, la síntesis proteica se incrementa en el hígado. Estas proteínas son liberadas posteriormente a la sangre, incrementando la proteinemia. Dichos mecanismos vienen determinados por el incremento del transporte de aminoácidos al interior de los hepatocitos y por la estimulación de las enzimas hepáticas necesarias para la síntesis proteica (*Guyton y Hall, 1996; Martin y Crump, 2003; Toribio, 2004*).

3.-Aumento de los aminoácidos sanguíneos, disminución del transporte de aminoácidos a las células extrahepáticas, y aumento del transporte a las células hepáticas. La disminución del transporte de aminoácidos al interior de las células extrahepáticas reduce su concentración intracelular y la síntesis proteica (*Cunningham, 2003*). Sin embargo, el catabolismo proteico celular continúa liberando aminoácidos de las proteínas ya existentes, que posteriormente se difunden hacia el plasma. El aumento de la concentración plasmática de aminoácidos, unido al hecho de que el CORT favorece su transporte al interior de las células hepáticas, podría explicar la mayor utilización de aminoácidos por parte del hígado y la gluconeogénesis (*Guyton y Hall, 1996; Cunningham, 2003; Toribio, 2004*).

2.3.1.1.3.-METABOLISMO LIPÍDICO

El CORT es un potente agente lipolítico que moviliza los ácidos grasos del tejido adiposo provocando una elevación de la concentración de los ácidos grasos libres en el plasma, para su posterior utilización en la obtención de energía (*Cunningham, 2003; Toribio, 2004*). Se ha sugerido que este proceso probablemente esté relacionado con la disminución del transporte de glucosa al interior de los adipocitos. El α -glicerofosfato, derivado de la glucosa, es necesario tanto para el depósito como para el mantenimiento de triglicéridos en dichas células y en su ausencia, los adipocitos comienzan a liberar ácidos grasos (*Guyton y Hall, 1996*).

Asimismo, el aumento de la movilización de grasas mediado por el CORT, combinado con la mayor oxidación de ácidos grasos, ayuda a desplazar sus sistemas metabólicos intracelulares. Así, en épocas de inanición o tras determinadas situaciones de estrés, se sustituye la utilización de glucosa por la de ácidos grasos como fuente energética, ayudando a preservar de forma prolongada el glucógeno y la glucosa a nivel orgánico. De forma sinérgica, el CORT estimula determinadas hormonas como el

glucagón, epinefrina y hormona del crecimiento, incrementando la movilización de ácidos grasos (*Martin y Crump, 2003; Toribio, 2004*).

2.3.1.2.-SISTEMA ENDOCRINO

Como se ha expresado previamente, el CORT interactúa con otras hormonas como, la insulina, el glucagón y la epinefrina, participando en el control metabólico. Sobre el músculo, los glucocorticoides antagonizan los efectos de la insulina, potenciando al mismo tiempo los efectos del glucagón y la epinefrina. La combinación de dichos efectos puede inducir hiperglucemia, que si persiste en el tiempo, podría favorecer la presencia del síndrome metabólico periférico (*Van der Kolk y cols., 1995; Jonhson, 2002*).

2.3.1.3.-SISTEMA MUSCULOESQUELÉTICO

Mientras que en animales jóvenes la secreción excesiva de glucocorticoides frena el crecimiento, en animales adultos provoca atrofia del tejido muscular debido a sus efectos catabólicos sobre las proteínas musculares. A nivel óseo deprimen la actividad de los osteoblastos e inhiben la síntesis de colágeno, antagonizan la vitamina D inhibiendo la absorción de calcio a nivel intestinal y estimulan la glándula paratiroides, conduciendo a la desmineralización ósea (*Cunningham, 2003; Martin y Crump, 2003; Toribio, 2004*).

2.3.1.4.-PIEL Y TEJIDO CONECTIVO

Los glucocorticoides modulan la proliferación y diferenciación de fibroblastos, necesarios para el mantenimiento de la piel y del tejido conectivo. La estimulación crónica tras tratamientos repetidos con glucocorticoides provoca adelgazamiento de piel y tejido subcutáneo, alopecia por atrofia de los folículos pilosos, hiperpigmentación, pioderma y seborrea. En ocasiones, puede llegar a depositarse sales de calcio en dermis y tejido subcutáneo (*Martin y Crump, 2003*).

2.3.1.5.-SISTEMA CARDIOVASCULAR

El CORT actúa sobre el mantenimiento del tono vascular y la presión sanguínea a nivel cardiovascular. El CORT también potencia la actividad de las enzimas sodio-potasio-ATPasa en los cardiocitos, responsable del efecto inotrópico y cronotrópico positivos, con el consiguiente aumento del rendimiento cardíaco (*Cunningham, 2003; Martin y Crump, 2003*).

2.3.1.6.-SISTEMA RENAL

Los glucocorticoides son necesarios para la función renal y el metabolismo hídrico. Principalmente, el CORT y la corticosterona tienen alguna actividad mineralocorticoidea debido a su unión a los receptores mineralocorticoideos. La retención de agua viene determinada por la disminución de la TFG e incremento de la secreción de vasopresina. El incremento de CORT aumenta la absorción de electrolitos por acción directa sobre los túbulos renales y de forma indirecta, vía secreción del péptido atrial natriurético (PAN) a nivel cardíaco (*Martin y Crump, 2003*).

Se ha documentado que tratamientos continuados con elevadas dosis de glucocorticoides causan un incremento del flujo sanguíneo renal, posiblemente debido a sus efectos vasodilatadores directos sobre los vasos renales. El incremento plasmático de glucocorticoides provoca un mecanismo de retroalimentación negativo sobre la liberación hipotalámica del factor liberador de corticotropinas (CRF) y vasopresina. La disminución de vasopresina conduce a un incremento de la excreción de orina, por aumento de la filtración renal. Por este motivo, la poliuria es un síntoma clínico asociado a la hipersecreción de glucocorticoides, como sucede en el Síndrome de Cushing (*Hillyer y cols., 1992; Love, 1993; Harman y Ward, 2001; Toribio, 2005*).

2.3.1.7.-HEMATOPOYESIS Y SISTEMA INMUNITARIO

El CORT reduce el número periférico de eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos e incrementa el número de neutrófilos. La neutrofilia se produce como consecuencia del incremento periférico de neutrófilos provenientes de la médula ósea por inhibición de la adhesión al endotelio. El descenso de linfocitos, monocitos y eosinófilos hace que los animales expuestos a dosis elevadas de glucocorticoides exógenos o endógenos sean más susceptibles al desarrollo de determinadas patologías de carácter infeccioso (*Morris y cols., 1988; Cunningham, 2003; Martin y Crump, 2003*).

Los glucocorticoides son poderosos inhibidores del sistema inmunitario, limitando la secreción de citoquinas por los macrófagos y la génesis de anticuerpos. Asimismo, producen involución de los nódulos linfoides, timo y bazo, debido a la inhibición de la mitosis de los linfocitos. De hecho, el ejercicio de resistencia, la fatiga, la falta de alimentos y agua y las temperaturas extremas inducen liberación de glucocorticoides e inmunosupresión (*Desmetch y cols., 1996; Martin y Crump, 2003; Robson y cols., 2003*).

El CORT aumenta la producción de eritrocitos y plaquetas, sin que se conozca la causa. De hecho, el exceso de CORT induce policitemia, mientras que la disminución suele acompañarse de anemia (*Guyton y Hall, 1996*).

2.4.-PARÁMETROS INDICADORES DEL ESTADO HIDROELECTROLÍTICO

2.4.1.-VALOR HEMATÓCRITO

El término serie roja hace referencia a los precursores eritrocitarios, los tejidos en los que tiene lugar su producción y a los eritrocitos maduros. La unidad funcional de la misma es el hematíe, el cual se evalúa a partir de muestras de sangre periférica, mediante el cálculo del número circulante de glóbulos rojos, de la concentración de HB, valor HTO, índices eritrocitarios y a través del examen morfológico a nivel microscópico (*Messer, 1995; Car, 2000; Lording, 2008*).

Dentro de la interpretación del análisis hematológico se deben considerar diversos factores de variación en relación a la serie roja, entre los que destacan manejo de la muestra y precisión de las determinaciones, actitud y grado de excitación del animal, alimentación, ritmos biológicos de tipo circadiano, estación del año, edad y estado fisiológico (*Archer y Jeffcott, 1977; Snow y cols., 1983; Jain, 1993; Rose y Hodgson, 1994; Car, 2000; Satué, 2004; Lording, 2008; Satué y cols., 2009; 2011*) que podrían alterar los valores hematológicos en reposo en équidos.

2.4.1.1.-MANEJO DE LA MUESTRA Y PRECISIÓN DE LAS DETERMINACIONES

Aunque la utilización de tubos de vacío para la colección de la sangre puede provocar daño celular (*Archer y Jeffcott, 1977*), el empleo de agujas de calibre superior a 21 G permite la obtención de resultados satisfactorios (*Messer, 1995; Barrelet y Ricketts, 2002*).

Uno de los cambios que aparecen con más frecuencia debido al almacenamiento es el aumento del tamaño de los eritrocitos, circunstancia que podría reflejarse en el incremento del valor HTO (*Rendle y cols., 2009*). *Clark y cols. (2002)* mostraron que el retraso en el análisis sanguíneo en équidos da lugar a un mayor número de eritrocitos normocíticos o macrocíticos e hipocrómicos. Por otro lado, la exposición de la muestra a elevadas temperaturas ambientales o a la luz solar puede provocar hemólisis, obteniéndose valores alterados de recuento eritrocitario (*Rose y Hodgson, 1994*).

La precisión de las determinaciones deriva de las características del equipamiento para el análisis. Por este motivo, se debe conocer el error al que se encuentran sometidos los estudios hematológicos efectuados, siendo recomendable la realización de mediciones repetidas, lo que permite una interpretación más fiable de los resultados (*Rose y Hodgson, 1994*).

2.4.1.2.-ACTITUD Y GRADO DE EXCITACIÓN

Otro aspecto que puede influenciar los resultados de la analítica sanguínea es la actitud y el grado de excitación que presenta el animal antes y durante la extracción de la muestra (*Rose y Hodgson, 1994*). El valor HTO en el caballo es muy variable, debido a la invasión del bazo y a su actuación como reservorio hemático, albergando en su interior más de la tercera parte del total de células rojas (*Persson, 1967; 1968; 1973; 1997; Hanson y cols., 1995; Rubio y cols., 1995*). Así, cualquier estimulación adrenérgica, como ocurre durante el ejercicio, en respuesta a la excitación, a la pérdida de sangre, etc., provoca esplenotomía, liberando gran cantidad de eritrocitos hacia la circulación periférica (*Schalm y Carlson, 1982; Kurosawa y cols., 1998; Nagata y cols., 1999; Stull y Rodiek, 2000; Thornton, 2000*). El principal factor limitante es el tiempo necesario para recoger la muestra de sangre. Una venipunción de duración superior a 30 seg altera significativamente el hemograma, ya que supone movilización esplénica, derivada de la actuación de los ejes simpático-adrenal e EHH (*Persson, 1967; Nagata y cols., 1999*).

2.4.1.3.-ALIMENTACIÓN

Otro factor a considerar es la alimentación recibida por el caballo. Se ha constatado un incremento significativo del HTO en animales alimentados a base de heno asociado con las pérdidas de líquidos a través de la salivación (*Kerr y Snow, 1982; Sufit y cols., 1985; Pagan y Harris, 1999*). De igual modo, se observan variaciones en los parámetros eritrocitarios en caballos con diferentes regímenes nutricionales (*Steinbrecher y cols., 1990; Gatta y cols., 1992; Greppi y cols., 1996; Raymond y cols., 2003*).

2.4.1.4.-ESTACIÓN DEL AÑO Y RITMOS BIOLÓGICOS DE TIPO CIRCADIANO

Los ritmos circunvecinales influyen notablemente sobre la hematología en équidos (*Gill y Wanska, 1978; Gill y Kownacka, 1979; Gill y cols., 1985*). De hecho, se ha determinado que la concentración de HB y el valor HTO son superiores en verano y otoño, en relación al resto de las estaciones del año. Esta variación se relaciona con una mayor ingestión de proteínas y con la actividad física más intensa que los animales realizan durante estas épocas del año (*Rowlands y cols., 1979; Singh y Rattan, 1981*).

Asimismo, los ritmos circadianos también alteran los diferentes parámetros hematológicos (*Gill y Rastawicka, 1986; Gatta y cols., 1992; Gill y cols., 1994; Yashiki y cols., 1995; Lubas y cols., 1996; Piccione y cols., 2003; 2007*). De hecho, *Gill y Rastawicka (1986)* y *Greppi y cols. (1996)* describen que los periodos de oscuridad se asocian con elevaciones del valor HTO y de la concentración de HB. Estas variaciones en

la eritropoyesis derivan de la alternancia entre los periodos de luminosidad y oscuridad (Haus, 1994; Haus y Smolenska, 1999).

2.4.1.5.-RAZA

La raza en équidos parece ejercer un efecto considerable sobre el eritrograma. Los caballos de las razas consideradas de sangre caliente (*hot-blooded*), como PSI, Árabe, Appaloosa, Cuarto de Milla y Standardbred, presentan valores hematológicos basales ligeramente superiores a los de las razas pesadas, de sangre fría (*cold-blooded*), como Percherón, Clydesdale y las razas de ponis (Knill y cols., 1969; Jain, 1993; Parry y Brobst, 1997; Satué, 2004; Satué y cols., 2009).

2.4.1.6.-EDAD

La influencia de la edad sobre los parámetros de la serie roja ha sido evaluada en diversas razas equinas (Ralston y cols., 1988, McFarlane y cols., 1998, 2001; Cebulj-Kadunc y cols., 2002, 2003; Satué, 2004; Hernández y cols., 2008; Satué y cols., 2009), aportando conclusiones similares.

Los potros recién nacidos tienen eritrocitos de origen fetal, de gran tamaño, y presentan elevados niveles de eritrocitos, HB y HTO. Dichos parámetros se reducen progresivamente desde las 12-24 horas primeras horas de vida, hasta las dos semanas siguientes, permaneciendo en el límite inferior del intervalo de referencia durante el primer año (Grondin y Dewitt, 2010). Estos cambios hematológicos iniciales en el potro derivan de la destrucción de glóbulos rojos de origen fetal, disminución del tiempo de supervivencia eritrocitaria, inadecuada suplementación de hierro necesaria para la síntesis de HB, disminución del estímulo para la producción de eritropoyetina (EPO), secreción de catecolaminas y expansión de VP, como consecuencia del efecto osmótico de la absorción de inmunoglobulinas del calostro. Por este motivo la microcitosis y la anisocitosis son hallazgos típicos en potros jóvenes (Jain, 1986; Harvey, 1990; Grondin y Dewitt, 2010).

Los valores normales hematológicos adultos se alcanzan a los 2 años de edad. En caballos PRE (Hernández, 2008; Satué y cols., 2008) y yeguas gestantes Cartujanas (Satué y cols., 2009) se ha mostrado una reducción del número de eritrocitos, con aumento compensatorio del volumen corpuscular medio (VCM) y hemoglobina corpuscular media (HCM). Esta reducción de la eritrocitemia también había sido mostrada anteriormente en équidos Standardbred (Jain, 1986, Ralston y cols., 1988), Lippizianos

(*Cebulj-Kadunc y cols., 2002*) y salvajes (*Plotka y cols., 1988*) y se ha asociado a la disminución de la capacidad regenerativa de la médula ósea (*McFarlane y cols., 1998*).

El aumento en el tamaño eritrocitario parece ser un hallazgo común asociado a la edad en el caballo (*Raltson y cols., 1988; Satué, 2004; Satué y cols., 2009*). Dicha respuesta podría indicar cambios en la dinámica de maduración eritrocitaria (*McFarlane y cols., 1998*).

2.4.2.-ELECTROLITOS PLASMÁTICOS EN EL CABALLO

Los electrolitos, Na, K y cloro (Cl) participan en importantes funciones biológicas como, conducción nerviosa, contracción muscular y equilibrio ácido-básico. Desde el punto de vista funcional, las concentraciones plasmáticas de electrolitos se encuentran sometidas a una regulación estricta. El Na y el Cl son los principales iones presentes en los fluidos extracelulares, determinan la osmolaridad plasmática y el volumen de LEC. El K es el principal determinante de las alteraciones en la tonicidad del plasma y es importante para el mantenimiento del equilibrio ácido-base en los fluidos corporales. De la totalidad del Na presente en el organismo, aproximadamente el 45% está presente en el fluido extracelular, el 10% en el fluido intracelular, y el restante es parte integrante de la estructura ósea (*McCutcheon y Geor, 1998; Waller y cols., 2006; Muñoz y cols., 2010, c*).

Mientras que el Cl y Na permanecen predominantemente en el LEC, el 90% de K se mantiene dentro de las células en proporciones variables según el órgano o tejido. La cantidad de K almacenada en músculo representa el 70%, el 3% en la piel, el 3% en sangre, 3% en el contenido gastrointestinal, el 10%, y el resto en otros tejidos (*Johnson y cols., 1991; Gottlieb-Vedi y cols., 1996; Meyer y Coenen, 2002*).

La retención de Na y K a nivel extra e intracelular respectivamente, se lleva a cabo a través de bombas consumidoras de ATP, como la $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$, que se alojan en la membrana celular y bombean K hacia el interior de las células, en intercambio con el Na. La elevada concentración de K intracelular mantiene el potencial de membrana en los músculos y nervios, ejerciendo un papel fundamental sobre los potenciales de acción que inician la contracción muscular y la transmisión del impulso nervioso (*McCutcheon y cols., 1996; Waller y cols., 2006*).

Se han descrito valores basales de 133-136 mmol/l de Na en équidos (*Rose y Hodgson, 1994; Ecker y Lindinger, 1995; Sloet van Oldrilenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006*). La natremia refleja más intensamente las modificaciones en el contenido de agua que los cambios netos de Na, de forma que la pérdida relativa de agua se traduce en hiper y un exceso relativo, en hiponatremia (*Muñoz y cols., 2010, c*).

Respecto al K se han documentado concentraciones basales de 3,6-4,5 mmol/l en équidos (*Art y cols., 1990; Rose y Hodgson, 1994; Ecker y Lindinger, 1995; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006; 2010, c*), aunque este rango puede ser superior (2,4-4,7 mmol/l). Debido a su naturaleza intracelular, con frecuencia la calemia no es representativa de los cambios en el K sistémico. No obstante, se acepta que calemias inferiores a 3 mmol/l se relacionan con depleción sistémica de este electrolito. Por otro lado, los niveles circulantes de K se ven afectados por el equilibrio ácido-básico, incrementándose en caso de acidosis (*Muñoz y cols., 2006*).

En caballos sanos no es común encontrar una hipocalemia en reposo, a no ser que su dieta se base en concentrados o que las pérdidas por sudoración no sean reemplazadas correctamente. Además, la hipercalemia puede deberse a hemólisis o manejo incorrecto de la muestra sanguínea. El K tiene una función importante en la instauración del estado de fatiga periférica, debido a alteraciones en los procesos de excitación de membrana y en asociación con la acumulación de este electrolito en el espacio intersticial fibrilar o en el sistema tubular transverso de las miofibras. Además del músculo esquelético y cardíaco, los cambios en la calemia pueden ejercer un efecto perjudicial en otros órganos, como por ejemplo los túbulos renales, desencadenando una insuficiencia renal aguda (*Messer, 1995; Stockham, 1995; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006; 2010, c*).

En équidos adultos se han definido niveles basales de 98,4-101 mmol/l de Cl (*Art y cols., 1990; Rose y Hodgson, 1994; Ecker y Lindinger, 1995*). El Cl es el anión principal en el espacio extracelular y en el sudor. La alteración más común en caballos de deporte es la hipocloremia, debido a las pérdidas por sudoración intensa (*McConaghy, 1994; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006*), acidosis metabólica o tubular renal (*Muñoz y cols., 2006; 2010, c*).

El Na se absorbe de forma activa a través de la pared intestinal, mientras que el Cl y K lo hacen de forma pasiva a partir de los alimentos ingeridos, fundamentalmente leguminosas. Se ha mostrado que el transporte transepitelial de Na es superior en el colon distal que en el proximal, mientras que 52-74% de K se absorbe en porciones anteriores al ciego, disminuyendo a nivel del intestino grueso (*Meyer, 1987; Groenendyk y cols., 1988; Clarke y cols., 1992; Harris y Snow, 1992; Rose y Hodgson, 1994; Stockham, 1995*). Factores como la edad y el pH del tracto intestinal pueden alterar la absorción de estos electrolitos. De hecho, la tasa de absorción se incrementa en animales jóvenes frente a los de mayor edad. De forma genérica se acepta que pequeñas modificaciones en las concentraciones circulantes de iones fuera del rango fisiológico se asocian fundamentalmente a patologías como enteritis, tiflocolitis, fallos renales y/o pérdidas

hídricas severas (*Stockham, 1995; McCutcheon y Geor, 1998; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999*).

2.5.-MODIFICACIONES DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA, CORTISOL Y PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL EQUILIBRIO HIDROELECTROLÍTICO DURANTE EL CICLO ESTRAL

2.5.1.-SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA

El SRAA participa activamente en acontecimientos fisiológicos relacionados con el ciclo estral, como desarrollo folicular, ovulación, esteroidogénesis, establecimiento del CL y atresia (*Ferreira y cols., 2007; Pereira y cols., 2009; Gonçalves y cols., 2010; Herr y cols., 2010; Pountain y cols., 2010; Sneeringer y cols., 2011; Gonçalves y cols., 2012*). Como estos eventos definen específicamente la fisiología en las fases del ciclo, folicular y luteínica, los componentes del SRAA (REN, ANG-II y ALD) experimentan modificaciones substancialmente a lo largo del ciclo estral. En referencia a las investigaciones precedentes realizadas en diversas especies, incluida la mujer, en este apartado se han considerado de forma independiente las modificaciones producidas en las concentraciones de REN, ANG-II y ALD según el grado de respuesta del SRAA en cada periodo (diestro y estro).

2.5.1.1.-FASE LUTEÍNICA

La bibliografía ha mostrado ampliamente que los componentes del SRAA se modifican significativamente durante el periodo luteal del ciclo. Así, en comparación con la fase folicular, la ARP (*Brown y cols., 1964; Winer, 1965; Skinner y cols., 1969; Robertson y cols., 1971; Sundsfjord y Aakvaag, 1970; Robertson y cols., 1971; Sundsfjord, 1971; Katz y Romfh, 1972; Sundsfjord y Aakvaag, 1972; Sealey y cols., 1985; 1987; Magness y Rosenfeld, 1989; Magness, 1993; Sealey y cols., 1994; Chapman y cols., 1997; Miller y cols., 1999; Spaanderman y cols., 2000; Chidambaram y cols., 2002; Ounis-Skali y cols., 2006*), ANG-II (*Sundsfjord y Aakvaag, 1970; Robertson y cols., 1971; Magness, 1993; Sealey y cols., 1994; Chapman y cols., 1997; Miller y cols., 1999; Spaanderman y cols., 2000; Chidambaram y cols., 2002; Ounis-Skali y cols., 2006; Szmuiłowicz y cols., 2006*) y ALD (*Landau y Lugibihl, 1958; Brown y cols., 1964; Skinner y cols., 1969; Robertson y cols., 1971; Katz y Romfh, 1972; Sundsfjord y Aakvaag, 1973; Oelkers y cols., 1974; Frölich y cols., 1976; Wambach e Higgins, 1978; Sealey y cols., 1985; 1987; Chapman y*

cols., 1997; *Spaanderman y cols.*, 2000; *Chidambaram y cols.*, 2002; *Ounis-Skali y cols.*, 2006; *Szmulowicz y cols.*, 2006) se incrementan significativamente a lo largo de la fase diestral en la mujer.

Este aumento de ALD implica modificaciones substanciales tanto en los niveles plasmáticos (*Chapman y cols.*, 1997; *Spaanderman y cols.*, 2000; *Chidambaram y cols.*, 2002; *Ounis-Skali y cols.*, 2006; *Szmulowicz y cols.*, 2006) como en la EU de ALD (*Nowaczynski y cols.*, 1962; *Reich*, 1962; *Gray y cols.*, 1968; *Sundsfjord y Aakvaag*, 1970). Además, ambas formas circulante y urinaria de ALD duplican, triplican e incluso cuadruplican sus cifras durante la fase luteal respecto a la fase folicular del ciclo (*Katz y Romfh*, 1972; *Sundsfjord y Aakvaag*, 1973). A pesar de ello, la ANG-II no experimenta una evolución simultánea a la ALD, sugiriendo que esta hormona puede ser producida por otras vías no dependientes del SRA durante este periodo (*Szmulowicz y cols.*, 2006). No obstante, esta idea no es defendida por todos los autores (*Parry y cols.*, 2000; *Pechère-Bertschi y cols.*, 2002).

La relación que se establece entre la ARP y ALD es lineal hacia la mitad o finales de la fase luteal (*Sundsfjord y Aakvaag*, 1970, 1972; *Katz y Romfh*, 1972; *Michelakis y cols.*, 1975; *Chapman y cols.*, 1997; *Stachenfeld y cols.*, 1999; *Hirshoren y cols.*, 2002). Este acontecimiento se ha puesto en evidencia en protocolos experimentales basados en la administración de REN o ANG-II durante el periodo luteal en la mujer. De hecho, la infusión de ambos componentes (REN y ANG-II) estimulan significativamente la secreción de ALD y la EUA (*Blair-West y cols.*, 1962; *Sundsfjord y Aakvaag*, 1970).

El estudio de la insuficiencia luteal en la mujer ayuda a dilucidar cuestiones como la participación de las hormonas sexuales en las modificaciones experimentadas por los componentes del SRAA durante las distintas etapas del ciclo estral. *Kaulhausen y cols.* (1978) analizaron de forma comparativa los niveles de AOVEN, ARP, ALD, gonadotropinas y esteroides ováricos en mujeres con ciclos ovulatorios y con fallo o insuficiencia luteal. Mientras que en mujeres fisiológicamente normales el pico de ARP se relaciona estrechamente con el incremento de ALD, en mujeres con fallo o ciclo anovulatorio estas relaciones temporales entre REN y ALD (*Michelakis y cols.*, 1975) o ARP y EUA (*Sundsfjord y Aakvaag*, 1970; *Sundsfjord*, 1971; *Sundsfjord y Aakvaag*, 1972) no se producen. Se ha hipotetizado que el CL una vez que alcanza la madurez funcional es la fuente primordial de REN y ALD, existiendo una relación directa entre la P4 u otros productos derivados del CL y los parámetros anteriormente descritos durante el diestro en ciclos fisiológicamente normales (*Michelakis y cols.*, 1975; *Oelkers*, 1996; *Ouni-Skali y cols.*, 2006; *García y cols.*, 2008), ya que la presencia de fallo ovulatorio disminuye sensiblemente los niveles de P4 (*Sundsfjord y Aakvaag*, 1972).

Por tanto, la P4 se considera uno de los mecanismos fisiológicos más importantes involucrados en la síntesis de ALD durante la fase luteal (Sealey y cols., 1994; Oelkers, 1996; Ouni-Skali y cols., 2006; García y cols., 2008). Determinados mecanismos dependientes de la P4 como, el incremento del flujo plasmático y de la TFG renal así como la excreción de Na y Cl (Van Beek y cols., 1996; Chapman y cols., 1997) inducen natriuresis. La natriuresis inicial inducida por la P4 estimula de forma compensatoria la secreción de REN, ANG-II y ALD (Sundsfjord y Aakvaag, 1970, 1971; Katz y Romfh, 1972; Sundsfjord y Aakvaag, 1972; 1973; Oelkers y cols., 1991; Sealey y cols., 1994; Oelkers, 1996; Hirshoren y cols., 2002; Szmuiłowicz y cols., 2006). Así, de forma experimental, la administración sostenida de P4 induce natriuresis, seguida de un pico de secreción de ALD, EUA y retención de Na (Brown y cols., 1964; Sundsfjord, 1971; Katz y Romfh, 1972; Sundsfjord y Aakvaag, 1972; Stachenfeld y Taylor, 2005). De la misma forma, la adición de P4 a glándulas adrenales en algunos animales de experimentación incrementa la producción de ALD 2,8 veces respecto a ciclos fisiológicamente normales (Telegdy y Lissák, 1965; DeRoos, 1969).

Cabe destacar que aunque la secreción de ARP, ANG-II y ALD se eleva tras la administración de P4, no se produce de forma simultánea (Stachenfeld y Taylor, 2005). Estos hechos se fundamentan en la competencia de la P4 y la ALD por el receptor mineralocorticoideo, como se ha puesto de manifiesto en la mujer (Landau y Lugibihl, 1958; Oelkers y cols., 1974; Myles y Funder, 1996) y en animales de experimentación (Wambach y Higgins, 1978; Quinkler y cols., 2002). En ciclos fisiológicamente normales, la P4 secretada de forma endógena ejerce un efecto antialdosterónico leve, evitando la retención excesiva de Na y agua durante el periodo luteal (Keam y Wagstraff, 2002).

No obstante, se ha hipotetizado que el pico de estrógenos y P4 que caracteriza la fase luteal duplica o triplica la ARP, ANG-II y EUA (Chidambaram y cols., 2002; Szmuiłowicz y cols., 2006) ya que el incremento normal de estrógenos que ocurre durante la primera mitad del ciclo no eleva substancialmente la ARP y EUA. Sin embargo, existen diversos mecanismos que podrían justificar la escasa influencia de los estrógenos sobre la síntesis de ALD durante el periodo luteal. Aunque el uso de estrógenos orales aumenta la expresión de la proteína captadora de ALD (Nowaczynski y cols., 1978) y AOGEN (Williamson y cols., 1996), estas modificaciones no se producen en la ANG-II (Keam y Wagstraff, 2002) ni en ciclos fisiológicamente normales (Sundsfjord y Aakvaag, 1972; Williamson y cols., 1996). La ausencia de correlaciones entre ALD y estrógenos, así como la falta de estimulación de la producción de ALD en cultivos *in vivo* de células de la glomerulosa, podrían ser otros factores que podrían excluir a los estrógenos de la síntesis de ALD durante el periodo luteal (Szmuiłowicz y cols., 2006).

Sin embargo, existen mecanismos adicionales involucrados en la producción de ALD no dependientes de la actividad de la P4 como el consumo de proteína o Na en la dieta (*Adler y cols., 1987; Woods, 1993*), o la vasodilatación periférica (*Chapman y cols., 1997*). Es difícil interpretar estos hallazgos sin tener en cuenta la ingesta de Na, ya que el balance de este electrolito determina primariamente la producción de ALD vía SRA (*Adler y cols., 1987*). De hecho, la mayoría estudios previos no controlaron o no documentaron (*Sundsfjord y Aakvaag, 1972; 1973; Chapman y cols., 1997; Stachenfeld y cols., 1999; 2001*) el balance de Na. Más recientemente, *Szmulowicz y cols. (2006)* mostraron que los niveles circulantes y urinarios de ALD se incrementan significativamente durante la fase lútea en respuesta a la infusión de ANG-II en mujeres con balance elevado de Na. En estas situaciones, se establecen correlaciones positivas entre P4 y ALD sin modificaciones en la ARP y ANG-II. Por el contrario, en mujeres con balance bajo de Na estas interrelaciones no se producen, a pesar de que la restricción de Na es un potente estímulo para la activación del SRA (*Adler y cols., 1988*). En dietas bajas de Na la ARP y ALD responden de forma independiente, por lo que la ausencia de modificaciones en ARP y ANG-II podría descartar que el incremento de ALD sea modulado vía SRA durante el periodo luteal.

A pesar de que los estrógenos no participan activamente en la secreción de ALD durante el periodo luteal, reducen la resistencia vascular periférica (*Chapman y cols., 1997*) vía óxido nítrico sintasa (NO) a nivel endotelial (*Best y cols., 1998*) o vasodilatación directa (*Mendelshon y Karas, 1999*), si bien, en la yegua esta enzima se relaciona directamente con la ovulación (*Pinto y cols., 2002*). De hecho, la administración de bloqueantes de la enzima NO retrasa o bloquea la ovulación en yeguas. Sin embargo, *Chidambaram y cols. (2002)* no mostraron diferencias en la respuesta vasodilatadora durante el ciclo a pesar del bloqueo ejercido por la ANG-II. En relación a estos acontecimientos es interesante destacar el estudio de *Binson y cols. (1992)*. Estos investigadores no observaron diferencias en la EU de Na a lo largo del ciclo a pesar del incremento de estrógenos y de la aparente activación del SRA durante el diestro. De esta forma, aunque existe activación humoral del SRA durante el periodo luteal, la respuesta hemodinámica renal y excretora a nivel tisular es escasa.

Los hallazgos aportados por *Szmulowicz y cols. (2006)* en mujeres con balance bajo de Na podrían esclarecer algunos aspectos relacionados con la disociación entre la ARP y ALD que se describe también durante la gestación tanto en la mujer (*Brown y cols., 1992; Fagundes y cols., 1992; Bentley-Lewis y cols., 2005*) como en la yegua (*Domingo, 2008; Satué y Domingo, 2011*). El aumento desproporcionado de ALD en relación a la ARP durante la gestación podría no estar mediado por la ANG-II (*Brown y*

cols., 1992). De hecho, la estimulación sostenida del SRAA en la yegua PRE durante la gestación podría estar mediada por elementos no dependientes de ANG-II u otros esteroides, como la P4 o sulfato de estrona, dominantes durante este periodo (*Satué y cols.*, 2011).

Otro de los mecanismos que se ha relacionado con la síntesis de REN y ALD durante el periodo luteal es el AOGEN y la PROREN. No obstante, las investigaciones realizadas en este ámbito han mostrado resultados contradictorios. Se conoce que la expresión de AOGEN está regulada transcripcionalmente por los estrógenos (*Gordon y cols.*, 1992). De hecho, la aplicación de tratamientos de estimulación ovárica en programas de fecundación in vitro (FIV) en mujeres, incrementa los niveles de estrógenos y REN (*Sealey y cols.*, 1994). De esta forma, la activación del SRAA durante el periodo luteal podría estar relacionada parcialmente con la síntesis de AOGEN (*Oelkers*, 1996) o con el efecto vasodilatador inducido por los estrógenos (*Magness y Rosenfeld*, 1989; *McCaffrey y Czaja*, 1989). Sin embargo, otras investigaciones no han mostrado variaciones en el AOGEN a lo largo del periodo luteal en ciclos normales (*Skinner y cols.*, 1969; *Sundsfjord y Aakvaag*, 1972; *Katz y cols.*, 1975). No obstante, el uso combinado de estrógenos y P4 durante el diestro en ratas ovariectomizadas se ha relacionado con elevación de ARP sin modificaciones en el AOGEN (*De Vito y cols.*, 1989; *Ojeda y cols.*, 2007). Además, la ausencia de relación entre la ARP y el AOGEN excluye a los estrógenos como causa probable de las modificaciones en la REN (*Skinner y cols.*, 1969; *Sundsfjord y Aakvaag*, 1972; *Katz y cols.*, 1975), a pesar de la participación en la secreción de ALD (*Katz y Kappas*, 1967).

La evidencia experimental ha puesto de manifiesto que la PROREN podría comportarse como una hormona relacionada con determinados procesos reproductivos que acontecen durante el ciclo. Aunque la fuente principal de REN activa circulante es el riñón, los ovarios parecen ser el origen del incremento cíclico de PROREN durante el ciclo (*Sealey y cols.*, 1987; 2010). Cabe destacar que la liberación de LH triplica los niveles de PROREN, permaneciendo elevados durante la primera mitad de la fase luteal. Al final del diestro, el descenso de P4 induce disminución simultánea de PROREN (*Oelkers*, 1996; *Ouni-Skali y cols.*, 2006; *García y cols.*, 2008; *Sealey y cols.*, 2010).

Aunque el periodo luteal incrementa significativamente la actividad del SRAA en la mayoría de estudios realizados en la mujer, en babuinos *Harewood y cols.* (1996) rebatieron estas hipótesis iniciales. Mientras que la fase luteal bloquea o inhibe, la fase folicular establece un incremento de actividad del SRAA. Este hecho se ha relacionado con retención de elevados volúmenes de fluido intersticial en la región perineal durante la fase folicular, que posteriormente se autoinfunde al VP al inicio de la fase luteal. De esta

forma, mientras que la fase folicular manifiesta regresión, la fase luteal se asocia con expansión de VP. Asimismo, la ARP queda significativamente bloqueada durante la fase luteal de forma paralela a las variaciones de fluidos, sin modificaciones en la actividad de la ECA (*Sanders y cols., 2006*). Se ha sugerido que el mecanismo de bloqueo del SRAA durante el diestro posiblemente esté relacionado con la inhibición ejercida por los estrógenos sobre la ANG-II (*Harewood y cols., 1996*).

Estos mecanismos fisiológicos difieren considerablemente a los que suceden en la mujer. De hecho, la elevación de P4 y E2 en el periodo luteal induce disminución del VP y de la proteína plasmática total (*Stachenfeld y cols., 1999; Sims y cols., 2008*). No obstante, este descenso de VP provoca escasas modificaciones en la retención de Na y agua, por lo que las variaciones en el VP probablemente estén relacionados con cambios en la presión osmótica coloidal y albúmina plasmática a nivel del espacio intersticial (*Stachenfeld y Taylor, 2003; 2007*).

Finalmente, otro de los acontecimientos fisiológicos que caracterizan el ciclo estral en relación a los componentes del SRAA es la inhibición de la ECA. La ausencia de modificaciones de esta enzima descarta algún tipo de influencia hormonal de los esteroides o gonadotropinas sobre su nivel de actividad (*Sanders y cols., 2006*).

2.5.1.2.-FASE FOLICULAR

Dentro de los acontecimientos que rigen el normal funcionamiento del ciclo estral en la mujer destacan el incremento preovulatorio de AOGEN, PROREN, ARP y REN (*Sealey y cols., 1987*), ANG-II (*Weir y cols., 1976*) y ALD (*Sundsford y Aakvaag, 1970; 1973; Frölich y cols., 1976; Weir y cols., 1976*). En animales de experimentación también se han descrito acontecimientos similares (*De Vito y cols., 1989*). No obstante, dicha elevación de la aldosteronemia es transitoria (*Skinner y cols., 1969; Sundsford y Aakvaag, 1973*) o no se manifiesta constantemente en todos los ciclos (*Katz y Romfh, 1972*).

Aunque se desconoce el origen del pico preovulatorio de ALD, se especula que el incremento de E2 podría ejercer un efecto estimulador sobre el AOGEN a nivel hepático, y éste a su vez sobre la ARP y ALD (*Katz y Kappas, 1967; Skinner y cols., 1969; Katz y cols., 1975*). Estas hipótesis se apoyan en evidencias experimentales basadas en la administración de estrógenos en la mujer (*Katz y Kappas, 1967; Crane y Harris, 1969; Sealey y cols., 1994*) y en la oveja (*Magness, 1993*). Sin embargo, otras investigaciones no han revelado interrelaciones entre estos parámetros en ciclos fisiológicamente normales (*Sundsford y Aakvaag, 1972; Kaulhausen y cols., 1978; Chidambaram y cols.,*

2002; Szmuiłowicz y cols., 2006), descartando algún tipo de influencia significativa de los estrógenos secretados a nivel endógeno sobre la ARP y EUA durante el periodo periovulatorio (Sundsfjord y Aakvaag, 1970; Sundsfjord, 1971; Sundsfjord y Aakvaag, 1972). Aunque estas investigaciones son contradictorias en apariencia, comúnmente se apoya la idea de que el aumento de AOGEN es el origen del pico de ARP (Kaulhausen y cols., 1978).

Por otro lado, se ha descrito un pico transitorio de PROREN simultáneo a la elevación de gonadotropinas, fundamentalmente LH, hacia el momento de la ovulación. Se especula que este pico de PROREN será responsable posteriormente de la síntesis de REN activa (Bouhnik y cols., 1985). No obstante, la PROREN y la LH no siempre se relacionan con la REN activa (Sealey y cols., 1985; 1987), ya que los efectos más notables de este precursor se originan hacia mitad de la fase luteal (Oelkers, 1996; Ouni-Skali y cols., 2006; García y cols., 2008).

Debido a que la ACTH se considera uno de los principales reguladores de la secreción de ALD, no debe descartarse su contribución al pico preovulatorio de ARP. Posiblemente estos procesos puedan estar relacionados con el efecto estimulador de los estrógenos sobre la glándula adrenal y la enzima 17α -hidroxi-progesterona, que también muestra un pico preovulatorio (Strott y cols., 1969). Aunque la infusión de ACTH induce elevación de la ARP (Kem y cols., 1975), la ausencia de modificaciones en los niveles CORT durante el ciclo (Parry y cols., 2000; Chidambaram y cols., 2002; Pechère-Bertschi y cols., 2002; Szmuiłowicz y cols., 2006), podría rebatir estas hipótesis iniciales.

Finalmente, otros factores como, modificaciones hemodinámicas del flujo sanguíneo renal, de la actividad simpática local y variaciones en las concentraciones de Na a nivel de la mácula densa, también se han relacionado con el pico preovulatorio de REN y ALD (Yang y cols., 2000; Sealey y Laragh, 2011).

2.5.2.-CORTISOL

En la yegua se establece una relación directa entre la función adrenal y la reproducción (Asa y cols., 1983; Allen, 1984; Love, 1993; van der Kolk, 1998; Harman y Ward, 2001; Schott, 2002; Hedberg y cols., 2007; AboEl-Maaty, 2011). Esta afirmación se fundamenta en hechos relacionados con la administración experimental de glucocorticoides naturales y sintéticos en yeguas cíclicas (Asa y Ginther, 1982; Ferris y McCue, 2010) y ovariectomizadas (Asa y cols., 1980, b). De un total de 8 yeguas tratadas con dexametasona en el estudio de Asa y Ginther (1982), una exhibió signos de celo, mientras solo dos de ellas llegaron a ovular. Este efecto sugiere un mecanismo de

retroalimentación negativo del CORT sobre el hipotálamo, hipófisis, ovario y útero. La disminución de la sensibilidad adenohipofisaria a la GnRH suprime la síntesis de LH, así como la producción de E2 y P4 a nivel ovárico. Este declive de esteroides insensibiliza o crea resistencia tisular al E2, interfiriendo con la ovulación (*Kalantaridou y cols., 2004; Hedberg y cols., 2007; Fazio y cols., 2009*). No obstante, estos efectos son más notables en yeguas ovariectomizadas (*Asa y cols., 1980, b*).

Por otra parte, la dexametasona ejerce un efecto negativo sobre la síntesis de ACTH, disminuyendo al mismo tiempo la producción de esteroides adrenales y el comportamiento de celo (*Asa y cols., 1980, b; Wesson y Ginther, 1981; Hooper y cols., 1993; Hedberg y cols., 2007*). Con frecuencia, este tipo de terapias se relacionan con anestro (*Asa y Ginther, 1982*) y fallo ovulatorio (*Ferris y McCue, 2010*). No obstante, otros estudios han revelado que aunque la administración de CORT retrasa el pico de LH, no inhibe la FSH ni la ovulación (*Baucus y cols., 1990, a, b; Erin y cols., 2004*).

Al igual que sucede con la administración exógena de glucocorticoides, bajo determinadas condiciones fisiológicas inductoras de estrés como, ejercicio físico (*Schmidt y cols., 2010*), transporte (*Baucus y cols., 1990, a, b; Nambo y cols., 1996*), dolor (*Merl y cols., 2000*), desequilibrios nutricionales (*Widmann, 2010*), destete (*Erber y cols., 2011*), o estrés social (*Alexander e Irvine, 1998; Berghold y cols., 2007*), el aumento sostenido de la cortisolemia suprime la liberación de GnRH, interfiere con la pulsatilidad y el inicio del pico de LH, altera la secreción de E2, la conducta receptiva de celo y la posterior implantación del cigoto. Estos efectos podrían estar mediados por la unión de los glucocorticoides a los receptores de la P4 (*Asa y Ginther, 1982; Hedberg y cols., 2007*). De esta forma, los regímenes severos de entrenamiento aplicados a yeguas reproductoras comúnmente se relacionan con ampliación de los intervalos interovulatorios, alteración de la dinámica folicular, el patrón endocrinológico y la ovulación (*Kelley, 2009; Mortensen y cols., 2009*), tasa de recuperación de embriones y la fertilidad (*Strzelec y cols., 2011*).

Por el contrario, *Baucus y cols. (1990, a)* mostraron que el aumento de CORT inducido por el transporte de 12 horas de duración en yeguas no modifica significativamente la secreción de LH, P4 o E2 durante el periodo ovulatorio. Finalmente, aunque los exámenes ginecológicos actúan como factores estresantes incrementando los metabolitos del CORT, éstos no influyen negativamente sobre la fertilidad y en animales con experiencia previa, no se elevan en exceso (*Berghold y cols., 2007*).

A pesar de estas consideraciones previas, en hembras fisiológicamente normales de diversas especies se ha mostrado que las concentraciones de CORT se modifican

notablemente a lo largo del ciclo estral. Así, el incremento de CORT que se produce durante la fase folicular, en la mujer (*Tica y cols., 2008; Wolfram y cols., 2011*) se ha relacionado con el aumento de estrógenos, ya que estos esteroides participan en la síntesis de la proteína captadora de este glucocorticoide (*Qureshi y cols., 2007*). Esta elevación ovulatoria de la cortisolemia también se asocia a la actividad de la enzima 11- β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 (11-HSD), encargada de la conversión de cortisona en CORT (*Lee y cols., 2007*). La exacerbación de los procesos inflamatorios que acompañan al desarrollo de las múltiples oleadas foliculares, también se ha relacionado con la elevación de CORT (*King y Critchley, 2010*). No obstante, en ratas y ratonas esta respuesta se produce más tempranamente (*Haulica y cols., 1988; Atkinson y Waddell, 1997*). De hecho, la ovariectomía en estas especies conlleva al descenso brusco de CORT durante el proestro, aunque puede ser compensada por la administración de E2 (*Seale y cols., 2004*).

Por el contrario, otras investigaciones realizadas en la mujer (*McCormick y Teillon, 2001; Nepomnaschy y cols., 2011*) y otras especies animales como, vacas (*Dieleman y cols., 1986; Yoshida y Nakao, 2005*), perras (*Benetti y cols., 2004*) y elefante hembra (*Brown y cols., 2004*) no han mostrado variaciones substanciales de la cortisolemia a lo largo del ciclo estral.

En la yegua el estado fisiológico altera significativamente las concentraciones y la ciclicidad de los ritmos circadianos de CORT. Así, algunos estudios han revelado incremento de CORT durante el periodo luteal y posterior disminución durante el periodo periovulatorio (*Asa y cols., 1983; Ginther y cols., 2007*) relacionado con el comienzo de la desviación folicular (*Ginther y cols., 2007*). Dicho descenso de la cortisolemia podría ser necesario para el correcto desarrollo folicular y liberación de LH. Por el contrario, *Hillier (2001)* y *Briant y cols. (2000)* mostraron incremento de CORT hacia el momento de la ovulación, sugiriendo un efecto antiinflamatorio protector de la función ovárica durante el celo.

De forma genérica, las yeguas ingravidas presentan concentraciones de CORT 20% superiores a la de yeguas gestantes (*Gill y cols., 1985; Cudd y cols., 1995*), aunque esta idea no es defendida por todos los investigadores (*Fazio y cols., 2009*). Además, se han establecido distintos patrones de ciclicidad del CORT en yeguas gestantes, vacías, potros de 2 y de 1 año, con diferencias de 400 a 700% entre ellos (*Gill y cols., 1985*). Asimismo, en yeguas ovariectomizadas los niveles de CORT disminuyen por la mañana (*Irvine y Alexander, 1994*) y aumentan por la noche (*Hedberg y cols., 2007*), en relación al patrón circadiano habitual (*Irvine y Alexander, 1994; Piccione y cols., 2001; Place y cols., 2010*), caracterizado por el incremento matinal de CORT.

Aunque se ha evidenciado un ritmo circannual de CORT durante las estaciones de primavera y verano en yeguas grávidas e ingrávidas (*Flisińska Bojanowska y cols., 1989; Fazio y cols., 2009*), *Flisińska-Bojanowska y cols. (1991)* mostraron ausencia de ciclicidad en este último grupo de yeguas. Por tanto, la gestación se considera un factor adicional que modifica el patrón diario y anual del CORT (*Hedberg y cols., 2007; Fazio y cols., 2009*), pudiendo llegar a enmascarar la ciclicidad durante la segunda mitad de la preñez en la yegua (*Gill y cols., 1985; Flisińska Bojanowska y cols., 1989; Satué y cols., 2007*). Estos cambios en la acrofase se relacionan con la acción de las hormonas de la gestación y lactación, ejerciendo una influencia distinta sobre la secreción y el uso de CORT en la yegua (*Flisińska Bojanowska y cols., 1992*). Así, en una yegua gestante y lactante al mismo tiempo, el incremento de CORT se relaciona con la necesidad de glucocorticoides durante el periodo de desarrollo fetal y lactación intensa (*Flisińska Bojanowska y cols., 1989*).

2.5.3.-MODIFICACIONES DE LOS PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL EQUILIBRIO HIDROELECTROLÍTICO DURANTE EL CICLO ESTRAL

2.5.3.1.-VALOR HEMATÓCRITO

A nivel clínico, el análisis de los índices hematológicos son un fiel reflejo de los procesos fisiológicos dinámicos que acontecen durante el ciclo reproductivo, presentando al mismo tiempo, uno de los métodos de control de la homeostasis más importantes a nivel orgánico dentro de los programas para incrementar la fertilidad en la hembra. Las investigaciones que evalúan los cambios hematológicos derivados del ciclo reproductivo en la yegua son escasas y controvertidas. En comparación con yeguas cíclicas fisiológicamente normales, diversos estudios realizados en yeguas gestantes PSI, Árabes, PRE de Estirpe Cartujana, Brasileñas y Bretonas, han revelado incremento significativo del valor HTO durante el periodo gestacional (*Berlink y cols., 2000; Satué, 2004; Galindo y cols., 2007; Satué y cols., 2010*). Esta alteración de los patrones hematológicos en yeguas gestantes se asocia con la intensidad de los requerimientos metabólicos necesarios para el desarrollo fetal (*Satué, 2004; Satué y cols., 2010*).

No obstante, numerosas investigaciones realizadas en la mujer (*Bailit y cols., 2007*) y otras especies animales, como vacas (*Steinhardt y cols., 1994*), perras (*Allard y cols., 1989*), cerdas (*Zvorc y cols., 2006*), cabras (*Azab y Andel Maksoud, 1999*) y primates (*Harewood y cols., 1996*) han mostrado una disminución de la eritrocitemia durante la gestación. Este declive del HTO en hembras grávidas respecto de las gestantes se ha relacionado con el incremento del volumen sanguíneo por retención de

agua y Na a nivel renal, debido a la actuación del SRAA bajo la acción de los estrógenos. Este estado de hipervolemia se hace necesario para cubrir las demandas del útero grávido, proteger a la madre y al feto de los efectos perjudiciales de la disminución del retorno venoso, y evitar que la madre padezca los efectos adversos de la pérdida de sangre durante el parto (*McMullin y cols., 2003*).

Las variaciones que experimentan las variables hematológicas de la serie roja bajo determinadas condiciones fisiológicas o experimentales durante el ciclo estral han sido documentadas en la mujer (*Vellar, 1974; Reeves y cols., 2001; Dapper y Didia, 2002; Clancy y cols., 2006; Chapman y cols., 1997; Javaid y cols., 2007; Pehlivanoglu y cols., 2007*) y en diversas especies animales, incluyendo vacas (*Ahmadi y cols., 2006*), ovejas (*Krajnicáková y cols., 1995*) y animales de experimentación (*Harewood y cols., 1996*), aunque con resultados contradictorios.

Mientras que algunos de estos estudios muestran un incremento de la eritrocitemia, más notable hacia el momento de la ovulación en la mujer (*Vellar, 1974; Dapper y Didia, 2002*), la oveja (*Krajnicáková y cols., 1995*) y animales de experimentación (*Harewood y cols., 1996*), otras investigaciones en vacas (*Ahmadi y cols., 2006*) y yeguas PRE (*Satué y Calvo, 2010*) no han revelado modificaciones a lo largo del ciclo estral. El incremento de la eritrocitemia se ha relacionado con las transformaciones funcionales y morfológicas del aparato reproductor así como con la influencia hormonal durante el celo. No obstante, el incremento del VP durante el periodo luteal disminuye notablemente el HTO, probablemente relacionado con el efecto combinado del E2 y la P4, como ha sido puesto en evidencia en la mujer (*Chapman y cols., 1997*).

Finalmente, otros estudios en la mujer investigaron por un lado, los efectos del estrés sobre la deformabilidad eritrocitaria (*Pehlivanolu y cols., 2007*) y las variaciones experimentadas en los parámetros eritrocitarios a 4.300 m de altitud durante el ciclo estral (*Reeves y cols., 2001*). Dichas investigaciones concluyeron que la deformabilidad eritrocitaria mejora durante la fase luteal, respecto a la fase folicular y que la eritropoyesis no se modifica en relación a la altitud durante el ciclo estral en esta especie.

2.5.3.2.-ELECTROLITOS (SODIO, POTASIO Y CLORO)

La dinámica que experimenta los electrolitos plasmáticos a lo largo del ciclo estral ha sido documentada en diversas especies, incluida la mujer (*Dadlani y cols., 1982; Mira y cols., 1984; Janowsky y cols., 2002; Lanje y cols., 2010*) y otras especies animales, como ovejas (*Michell, 1979; Michell y Noakes, 1985; Krajnicáková y cols., 1993; 1994; Keller-Wood, 2000; Sims y cols., 2008*), vacas (*LeRoy y cols., 2004; Hugentobler y cols.,*

2010), búfalas (*Arshad y cols., 2005*) y yeguas (*Lumsden y cols., 1980; Kinslow y cols., 1995; Collins y cols., 1997; Naeed, 2004; Ali y cols., 2010; Meliani y cols., 2011*).

En la mujer, la fase luteal se caracteriza por el descenso de las concentraciones plasmáticas de Na e incremento de K (*Dadlani y cols., 1982; Mira y cols., 1984; Lanje y cols., 2010*), si bien, este último es variable pudiendo no manifestarse o disminuir (*Michell, 1979; Keller-Wood, 2000*). La disminución de la natremia se ha atribuido a la acción de la hormona antidiurética (ADH) (*Forsling y cols., 1981*) y al antagonismo entre la P4 y ALD a nivel del receptor mineralocorticoideo (*Landau y Lugibihl, 1958*) durante el periodo luteal. Sin embargo, la natremia y la calemia se incrementan considerablemente hacia el momento de la ovulación en la mujer (*Dadlani y cols., 1982; Mira y cols., 1984*). Dicha respuesta se relaciona con los estrógenos, que muestran un patrón bifásico sobre la EU y fecal de Na, favoreciendo la pérdida inicial, seguida de un periodo de retención más tardío, como ha sido puesto de manifiesto en la mujer (*Keller-Wood, 2000; Sims y cols., 2008*) y la oveja (*Krajnicáková y cols., 1993; 1994*).

Por el contrario, algunos estudios han revelado que el pico ovulatorio de ALD determina retención de Na durante la fase folicular en la mujer (*Michelakis y cols., 1975; Janowsky, y cols., 2002*). Adicionalmente, los esteroides gonadales estimulan la secreción de arginina vasopresina (AVP), participando también en la retención de fluidos (*Keller-Wood, 2000*).

Mientras que las concentraciones de Na son constantes en yeguas cíclicas ($136,46 \pm 2,60$ mmol/l), se han establecido valores medios de K de 5,19 mmol/l en yeguas fértiles, 2,99 mmol/l en gestantes y 4,31 mmol/l en yeguas subfértiles (*Naheed, 2004; Meliani y cols., 2011*). Estos datos representan una elevación de la natremia y la calemia en yeguas cíclicas respecto al resto de categorías, como se ha puesto de manifiesto en yeguas de raza árabe (*Ali y cols., 2010; Meliani y cols., 2011*) y PSI (*Lumsden y cols., 1980*). Las diferencias entre categorías se relacionan con las necesidades electrolíticas específicas y con el patrón endocrinológico dominante en cada periodo del ciclo reproductivo.

En relación al patrón endocrinológico, *Collins y cols. (1997)* y *Kinslow y cols. (1995)* investigaron la influencia de la P4 y el E2 sobre la excreción de electrolitos durante el ciclo estral en la yegua. Las elevadas correlaciones entre los niveles de Cl y E2, y Na, Cl y P4, sugieren la influencia notable de los esteroides ováricos sobre la EU de electrolitos durante la fase folicular y luteínica, respectivamente. Al igual que acontece en la mujer y la oveja, el periodo ovulatorio en la yegua se caracteriza por aumento de la EU de Na (*Kinslow y cols., 1995*). No obstante, esta respuesta muestra un cierto carácter

individual, siendo más intensa en algunos individuos que en otros (*Kinslow y cols., 1995; Collins y cols., 1997*). En consecuencia, los electrolitos están íntimamente relacionados con la actuación de las hormonas ALD, P4 y ADH sobre la función renal, favoreciendo el mantenimiento de los volúmenes de distribución y dinámica de fluidos y electrolitos durante el ciclo estral.

Por el contrario, en búfalas no se han encontrado variaciones en las concentraciones de electrolitos a lo largo del ciclo estral (*Arshad y cols., 2005*). Además, en vacas la natremia no se correlaciona con la P4 (*Hugentobler y cols., 2010*). No obstante, los niveles plasmáticos e intrafoliculares de Cl se relacionan positivamente con el tamaño folicular (*Leroy y cols., 2004; Hugentobler y cols., 2007*). Esta relación sugiere que los cambios metabólicos producidos a nivel sistémico se reflejan en el líquido folicular, y que este mineral podría estar íntimamente relacionado con la calidad de las células de la granulosa y del ovocito.

3.-MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.-CENTRO DE REALIZACIÓN

Este estudio experimental se ha llevado a cabo en 6 ganaderías de équidos Pura Raza Española situadas en el término municipal de Pinedo, Almenara y Massanassa de la Comunidad Valenciana.

Las determinaciones hematológicas y bioquímicas se llevaron a cabo en el laboratorio del *Hospital Clínico Veterinario de la Universidad CEU-Cardenal Herrera*. La cuantificación hormonal se realizó en el *Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Fisiología (Sección Fisiología Animal) de la Universidad Complutense de Madrid*.

3.2.-SELECCIÓN DE LOS ANIMALES

3.2.1.-DESCRIPCIÓN GENERAL DE LOS ANIMALES

El procedimiento experimental fue aprobado por el Comité de Ética y Bienestar Animal de la Universidad CEU Cardenal Herrera, siguiendo las directrices de la legislación española (Real Decreto 1201/05) y europea (Directiva 86/609/EEC). El estudio se ha llevado a cabo en 25 yeguas reproductoras PRE con edades comprendidas entre 5 y 15 años, elegidas libremente al azar de la totalidad del efectivo reproductor de las citadas ganaderías. En todos los casos los propietarios aceptaron la participación voluntaria en la investigación y firmaron su consentimiento informado.

Los criterios de inclusión de las yeguas en el estudio han sido los siguientes:

-Historial reproductivo: regularidad de ciclos estrales, partos previos normales, potros nacidos viables, ausencia de patologías de origen reproductivo como endometritis, piometra, placentitis, mamitis o mastitis u otros procesos inflamatorios relacionados con pérdidas de fertilidad durante las estaciones precedentes

-Carencia de procesos inflamatorios e infecciosos de cualquier otro origen o que hubiesen requerido hospitalización un mes antes al inicio de la toma de muestras.

-No haber recibido ni estar recibiendo medicación con antibióticos ni antiinflamatorios durante el periodo de toma de muestras.

-Estar al corriente del programa de desparasitación y vacunación periódicos.

-No haber tenido y tener acceso libre al bloque de sal durante el periodo de estudio.

Fueron excluidas del estudio aquéllas yeguas mayores a 15 años, con defectos de conformación perineal y vulvar, con antecedentes de patologías relacionadas con neumovagina, endometritis, distocias, tumores ováricos y quistes endometriales, que al mismo tiempo hubiesen causado pérdida de fertilidad.

3.2.2.-CONDICIONES DE CRÍA Y ALIMENTACIÓN

Las yeguas incluidas en este estudio fueron sometidas a las mismas condiciones de manejo, alimentación y control reproductivo desde mediados de febrero a finales de abril, correspondiente a la temporada reproductiva 2009. Ninguna de ellas llevó a cabo un programa de entrenamiento ni ejercicio físico reglado desde su nacimiento hasta alcanzar la madurez reproductiva.

Una vez alcanzada la edad de 4 años, las yeguas se destinaron a la reproducción, siendo esta la única actividad desarrollada hasta el inicio de la presente investigación. Durante el periodo de estudio, las yeguas permanecieron estabuladas durante el día, con la finalidad de evitar la exposición a las elevadas temperaturas ambientales, con salidas a la pradera durante la noche.

La alimentación suministrada a las yeguas se estableció en función de las necesidades nutritivas y edad. La dieta diaria consistió en la combinación de fibra y pienso concentrado. Las cantidades diarias de concentrado en la dieta dividida en dos raciones, fueron de 4 a 6 kilogramos. La fibra la proporcionaron de 2 a 3 kg de heno de alfalfa y paja. El consumo de agua fue *ad libitum*.

Las condiciones climatológicas de temperatura, humedad y número de horas diarias de luz solar correspondientes a la zona de ubicación de las yeguas, se distribuyeron por meses y aparecen reflejadas en la Tabla 1.

MES	TEMPERATURA MEDIA (°C)	HUMEDAD RELATIVA (%)	DURACIÓN PERIODO SOLAR (%)
ENERO 2009	9,900	76	42
FEBRERO 2009	13,50	68	49
MARZO 2009	15,20	59	58
ABRIL 2009	19,70	69	51
MAYO 2009	24,40	65	48
JUNIO 2009	25,90	56	53

TABLA 1.-Valores medios mensuales de la humedad relativa (%), de la temperatura ambiental (°C) y del porcentaje de horas de sol durante el periodo de estudio (Datos aportados por el *Instituto Nacional de Meteorología*; Delegación territorial de la Comunidad Valenciana).

3.2.3.-MANEJO REPRODUCTIVO

Las yeguas comenzaban a testarse a partir del momento en que iniciaban a manifestar signos de celo, sometándose para ello a una exploración rectal y colposcópica, evaluando aspectos como el diámetro longitudinal de la vulva, edematización de los labios vulvares, tono del cuello uterino y características del moco cervical, etc. Mediante examen ecográfico se llevó a cabo el control diario del desarrollo folicular utilizando para ello una sonda transrectal (*Ecógrafo: Sonosite 180 Plus; Sonda transrectal 5 MHz*) hasta el momento de la ovulación. Tras la ovulación, y también mediante control ecográfico diario se verificó el desarrollo y maduración del cuerpo lúteo finalizando el 5º día post-ovulación. En ningún caso se utilizaron tratamientos hormonales de sincronización de los ciclos ováricos, por lo que únicamente se consideraron ciclos estrales desarrollados de forma natural.

3.3.-OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS

3.3.1.-PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN, MANIPULACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Debido a que el objetivo de la presente investigación ha sido evaluar la evolución experimentada por los componentes del SRAA y otros parámetros hematológicos y bioquímicos relacionados con el equilibrio hidroelectrolítico durante el ciclo estral, las

muestras comenzaron a extraerse diariamente desde el día 5 pre hasta el día 5 post-ovulación, considerando el día 0, el día de la ovulación.

Para evitar el efecto de la alimentación y las modificaciones de los ritmos circadianos sobre la cortisolemia, las extracciones sanguíneas se llevaron a cabo en ayunas y siempre por la mañana, entre las 8:00 y 11:00 horas. La colección de sangre se efectuó mediante punción en la vena yugular externa, previa desinfección del área interesada con alcohol de 96^º, utilizando jeringas desechables con cono luer de 20 ml (*Discardit® II Becton Dickinson*) y agujas de 40 mm de longitud y de calibre 18-20 G (*Sterican®, Braun Melsungen AG*).

En cada extracción se obtuvieron 20 ml de sangre venosa, que quedó separada en cinco fracciones para su posterior análisis. De la primera fracción se separó un volumen de 0,1 ml, en tubos de microhematócrito, procediendo a su centrifugación utilizando una centrífuga de microhematócrito (*Quims, Q222H®*). La segunda fracción con un volumen de 8 ml, fue introducida en tubos con 0,125 M de EDTA (*Vacutainer 6450, Becton-Dickinson Ltd., Rutherford, NJ*) y 0,25 M de o-fenantrolina (*199 µl/ml plasma, P-9375; Sigma Chemicals, St Louis, MO*). Estas muestras inmediatamente fueron centrifugadas a 1000 G durante 15 minutos para la extracción inmediata de plasma y análisis de ANG-II. El volumen de sangre restante se dividió a su vez en tres nuevas fracciones que fueron repartidas en tubos de vidrio sin anticoagulante (*Tapval @, Barcelona, España*) para la obtención de suero (2 ml), tubos con heparina-litio (*Tapval @, Barcelona, España*) para la determinación de ALD (2 ml) y tubos con EDTA (*Tapval @ Barcelona, España*) para la medición de las concentraciones de REN (5 ml). Las muestras para la determinación de ANG-II se colocaron en una bombona de nitrógeno líquido refrigerado *CryoPac* (-196 °C) y fueron transportadas al laboratorio, donde posteriormente fueron almacenadas a -70 °C. Las muestras para las determinaciones de CORT, P4, ESTRADIOL, REN y ALD también se centrifugaron, separaron y fueron almacenadas a -20 °C. Las determinaciones séricas de P4, ESTRADIOL, CORT, REN, ANG II y ALD fueron llevadas a cabo en el *Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid (España)*.

3.3.2.-ANÁLISIS LABORATORIAL

3.3.2.1.-ANÁLISIS HEMATOLÓGICO Y BIOQUÍMICO

Se han determinado los siguientes parámetros hematológicos y bioquímicos laboratoriales: valor hematócrito (%) y concentraciones plasmáticas de sodio (Na, mmol/l), potasio (K, mmol/l) y cloro (Cl, mmol/l).

Para la determinación del hematócrito, se utilizó la técnica del microhematócrito, como se ha detallado en el epígrafe anterior (3.3.1).

Las concentraciones plasmáticas de Na, K y Cl se cuantificaron mediante un analizador con electrodos selectivos para los tres iones (*Vetlyte® IDEXX Laboratories*). Estas determinaciones se basaron en la comparación entre la muestra y un electrodo de referencia, con concentraciones conocidas de los citados electrolitos.

3.3.2.2.-ANÁLISIS HORMONAL

En este estudio, se han determinado las concentraciones de renina (REN), angiotensina (ANG-II), aldosterona (ALD), cortisol (CORT), estradiol-17 β (E2) y progesterona (P4) para cada una de las extracciones a lo largo de los 11 días del estudio. A continuación se especifican los procedimientos de determinación y las características de cada uno de los análisis.

Las concentraciones de REN (pg/ml) se determinaron mediante una técnica inmunoradiométrica sandwich para la detección de REN activa en plasma. Se utilizaron tubos de poliestireno recubiertos con anticuerpo policlonal anti-REN producido en conejo (*Biogenesis, Morphosys 7929-9930, Cergy Saint-Christophe, France*) y el anticuerpo secundario marcado con I-125 (*DRG Diagnostics, 10285, Marburg/Lahn, Germany*). Este procedimiento laboratorial mostró una elevada especificidad para la REN (porcentaje de recuperación del 95-105%). Se han descrito reacciones cruzadas del primer anticuerpo policlonal y del segundo anticuerpo marcado con I-125 con la pro-REN (3% y 1,8%, respectivamente). La sensibilidad de esta técnica fue de 1 pg/ml. Los coeficientes de variación (CV) intra-análisis e inter-análisis fueron menores de 5% y 15%, respectivamente.

Las concentraciones de ANG-II (ng/ml) se establecieron mediante un método ELISA de competición basado en el sistema biotina-estreptavidina-peroxidasa. Se utilizaron placas de ELISA recubiertas con el anticuerpo secundario (*Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Belmont, CA, USA*), el anticuerpo primario (Anticuerpo policlonal anti-ANG-II, RAB 002-12, *Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Belmont, CA, USA*), la ANG-II biotinilada (*Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Belmont, CA, USA*) y el conjugado estreptavidina-peroxidasa (EK-SA-HRP, *Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Belmont, CA, USA*). Este procedimiento laboratorial mostró una elevada especificidad para la ANG-II (porcentaje de recuperación del 98,5%). La sensibilidad de esta técnica fue de 100 pg/ml. Los CV intra-análisis e inter-análisis fueron menores de 5% y 14%, respectivamente.

Las concentraciones de ALD (pg/ml) fueron obtenidas también mediante el método ELISA de competición. Se utilizó el anticuerpo policlonal AD97 y el conjugado ALDO 3CMO-HRP (*Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Fisiología de la Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España*). Esta prueba presenta una especificidad elevada para la ALD (porcentaje de recuperación del 97,6%). No obstante, presenta reacciones cruzadas del anticuerpo policlonal con 11-deoxicorticosterona (1,1%) y cortisona, corticosterona, 11-deoxicortisol y 21-deoxicortisol (menor de 0,1% para estos últimos). La sensibilidad de esta técnica fue de 15 pg/ml. Los CV intra-análisis e inter-análisis quedaron comprendidos entre 4,7-6,4% y 8,5-9,6%, respectivamente.

Los niveles de CORT (ng/ml) se cuantificaron en suero, a partir de un volumen de 100 µl, mediante un método inmunoenzimático de competición, en el que se han empleado anticuerpos policlonales C97 (*Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Fisiología de la Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España*). Este procedimiento laboratorial muestra una elevada especificidad para el cortisol. No obstante, presenta reactividad cruzada con la prednisolona (15,71%), prednisona (18,9%), cortisona (10,8%), corticosterona (6,4%), 11-deoxycortisol (40,31%), 21-deoxycortisol (5,31%) y dexametasona (< 0,1%). Ninguna de las yeguas se encontraba bajo terapia con antiinflamatorios esteroideos durante el periodo de estudio. La sensibilidad de la técnica fue de 3 pg/100 µl. Los coeficientes de variación intraensayo quedaron comprendidos entre 6,63% y 3,7%, a bajas concentraciones y entre 9,93% y 3,92% a altas concentraciones. El porcentaje de recuperación de la muestra fue del 95%.

Los niveles de estradiol E2 (ng/ml) y P4 (ng/ml) se determinaron mediante la técnica inmunoenzimática de competición (EIA). Para la determinación de la concentración de ESTRADIOL se utilizó un método directo sin extracción previa de la muestra. En la determinación de la P4 se precisó una extracción previa de la muestra con éter dietílico. Para ambas hormonas, la técnica de medición se basó en la reacción entre la hormona libre, bien de la muestra o estándar y la hormona conjugada a la enzima. Tras la incubación de la muestra junto con el conjugado, se produjo una reacción de oxidación con el cromógeno que lleva incorporado el sustrato, dando lugar a una reacción coloreada. Posteriormente, se procedió a la lectura de la absorbancia mediante un lector automático EIA (*Bio-Tek*), utilizando filtros de 450 a 600 nm.

3.4.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el estudio estadístico, se utilizó el programa informático SPSS versión 12.01 para *windows* (*SPSS Inc., Chicago, IL, USA*).

Se calcularon los estadísticos descriptivos, como la media, los valores máximo y mínimo y la desviación estándar (DS) para cada día del ciclo.

La normalidad y homocedasticidad de los datos fue comprobada mediante el *Test de Kolmogorov-Smirnoff*. Para las variables no distribuidas normalmente, se empleó un test comparativo de Krustal-Wallis. Cuando las diferencias fueron estadísticamente significativas, las comparaciones entre grupos se realizaron mediante el *test de Mann-Whitney* con ajuste de *Bonferroni*.

Para analizar el efecto del día del ciclo sobre los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales se utilizó un análisis de varianza (ANOVA). En aquellos casos en los que este análisis mostró la existencia de diferencias estadísticamente significativas, se aplicó seguidamente un test de *Tukey HSD*. Con este último se determinaron las diferencias entre los distintos días del ciclo.

Las interrelaciones entre el diámetro folicular y las concentraciones de REN, ANG-II, ALD, E2, CORT, HTO, Na, K y Cl durante la fase folicular y REN, ANG-II, ALD P4 y CORT, Na, K y Cl durante la fase luteínica fueron evaluadas utilizando un análisis de regresión lineal y las correlaciones fueron expresadas mediante el coeficiente de *Correlación de Pearson*. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando p fue inferior a 0,05 ($p < 0,05$).

4.-RESULTADOS

Para una mejor exposición de los datos obtenidos en la presente investigación, el apartado de resultados se ha dividido en los siguientes epígrafes:

4.1.-Establecimiento de los valores hematológicos, bioquímicos y hormonales de referencia en la yegua PRE a lo largo del ciclo estral considerado. Para este primer apartado se han considerado conjuntamente las 275 muestras extraídas, independientemente del patrón temporal de las venipunciones.

4.2.-Evolución de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales a lo largo del ciclo estral en la yegua PRE. Para analizar la influencia del ciclo estral en este segundo apartado, se ha considerado el intervalo comprendido entre el día 5 pre y 5 post-ovulación, considerando el momento 0, el día de la ovulación.

4.3.-Correlaciones entre las variables hematológicas, bioquímicas y hormonales en la yegua PRE durante la fase folicular y luteínica del ciclo estral.

4.1.-PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE

En la Tabla 2 se recopilan los estadísticos básicos de las diversas variables hematológicas, bioquímicas y hormonales consideradas en este estudio para el conjunto de la población equina analizada.

	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
DIÁMETRO (cm)	125	22,10	42,30	32,46	6,060
P4 (ng/ml)	275	0,130	2,560	0,963	0,776
E2 (ng/ml)	275	21,20	59,12	35,40	7,820
REN (pg/ml)	275	0,170	3,400	0,924	0,709
ANG-II (ng/ml)	275	0,100	0,360	0,263	0,069
ALD (pg/ml)	275	223,1	617,0	460,5	94,47
CORT (ng/ml)	275	54,30	102,1	71,22	8,800
HTO (%)	275	30,00	43,70	34,53	3,526
Na (mmol/l)	275	125,0	152,0	141,2	3,653
K (mmol/l)	275	2,800	5,600	4,130	0,550
Cl (mmol/l)	275	95,00	118,0	105,8	3,109

TABLA 2.-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE (*P4: progesterona; E2: estradiol-17β; REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALD: aldosterona; CORT: cortisol; HTO: valor hematócrito; Na: sodio; K: potasio; Cl: cloro*).

4.2.-EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PRE

A continuación, en las Tablas 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13 se muestran los estadísticos básicos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales diarios a lo largo del periodo de estudio.

	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
DIÁMETRO (cm)	25	23,30	30,20	27,02	2,113
P4 (ng/ml)	25	0,630	0,740	0,708	0,043
E2 (pg/ml)	25	22,20	25,30	24,30	0,773
REN (pg/ml)	25	0,170	0,800	0,308	0,162
ANG-II (ng/ml)	25	0,280	0,310	0,297	0,014
ALD (pg/ml)	25	223,1	333,2	316,6	21,05
CORT (ng/ml)	25	70,00	80,10	77,27	2,985
HTO (%)	25	30,00	38,80	33,55	3,086
Na (mmol/l)	25	142,0	143,0	142,1	0,338
K (mmol/l)	25	3,300	5,100	4,183	0,546
Cl (mmol/l)	25	105,0	107,0	105,6	0,928

TABLA 3.-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 5 previo a la ovulación (*P4*: progesterona; *E2*: estradiol-17 β ; *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALD*: aldosterona; *CORT*: cortisol; *HTO*: valor hematócrito; *Na*: sodio; *K*: potasio; *Cl*: cloro).

	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
DIÁMETRO (cm)	25	27,10	33,20	29,28	1,419
P4 (ng/ml)	25	0,580	0,650	0,607	0,025
E2 (pg/ml)	25	23,34	27,80	26,81	1,323
REN (pg/ml)	25	0,310	1,800	0,526	0,492
ANG-II (ng/ml)	25	0,280	0,330	0,314	0,020
ALD (pg/ml)	25	332,1	363,4	348,2	10,86
CORT (ng/ml)	25	63,20	78,20	73,18	4,198
HTO (%)	25	30,00	35,90	33,60	1,624
Na (mmol/l)	25	139,0	143,0	141,1	1,569
K (mmol/l)	25	3,300	4,800	3,754	0,561
Cl (mmol/l)	25	104,0	106,0	104,9	0,550

TABLA 4.-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 4 previo a la ovulación (*P4*: progesterona; *E2*: estradiol-17 β ; *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALD*: aldosterona; *CORT*: cortisol; *HTO*: valor hematócrito; *Na*: sodio; *K*: potasio; *Cl*: cloro).

	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
DIÁMETRO (cm)	25	33,00	38,30	35,37	1,826
P4 (ng/ml)	25	0,390	0,540	0,440	0,044
E2 (pg/ml)	25	32,35	33,02	32,51	0,205
REN (pg/ml)	25	0,390	1,300	0,535	0,296
ANG-II (ng/ml)	25	0,200	0,290	0,245	0,046
ALD (pg/ml)	25	311,2	372,2	351,2	26,27
CORT (ng/ml)	25	59,20	69,30	64,79	2,015
HTO (%)	25	31,20	35,90	34,86	1,772
Na (mmol/l)	25	136,0	144,0	139,9	2,476
K (mmol/l)	25	4,000	4,700	4,296	0,216
Cl (mmol/l)	25	103,0	109,0	104,9	1,963

TABLA 5.-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 3 previo a la ovulación (*P4*: progesterona; *E2*: estradiol-17 β ; *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALD*: aldosterona; *CORT*: cortisol; *HTO*: valor hematócrito; *Na*: sodio; *K*: potasio; *Cl*: cloro).

	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
DIÁMETRO (cm)	25	36,10	41,10	38,16	1,548
P4 (ng/ml)	25	0,320	0,430	0,360	0,031
E2 (pg/ml)	25	36,90	38,10	37,18	0,378
REN (pg/ml)	25	0,450	1,780	0,777	0,491
ANG-II (ng/ml)	25	0,300	0,310	0,307	0,005
ALD (pg/ml)	25	325,1	403,3	380,3	36,20
CORT (ng/ml)	25	57,80	67,40	65,13	3,165
HTO (%)	25	30,10	33,40	31,36	0,998
Na (mmol/l)	25	138,0	144,0	141,3	1,971
K (mmol/l)	25	3,700	4,100	4,033	0,152
Cl (mmol/l)	25	104,0	108,0	105,2	1,351

TABLA 6.-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 2 previo a la ovulación (*P4*: progesterona; *E2*: estradiol-17 β ; *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALD*: aldosterona; *CORT*: cortisol; *HTO*: valor hematócrito; *Na*: sodio; *K*: potasio; *Cl*: cloro).

	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
DIÁMETRO (cm)	25	38,10	42,30	40,23	1,377
P4 (ng/ml)	25	0,200	0,320	0,294	0,037
E2 (pg/ml)	25	37,10	39,61	37,59	0,804
REN (pg/ml)	25	1,200	2,300	1,625	0,518
ANG-II (ng/ml)	25	0,320	0,360	0,342	0,019
ALD (pg/ml)	25	431,3	515,0	479,6	39,49
CORT (ng/ml)	25	54,30	87,40	78,30	8,186
HTO (%)	25	30,10	41,00	34,19	4,700
Na (mmol/l)	25	137,0	140,0	138,9	0,999
K (mmol/l)	25	3,700	4,500	3,883	0,266
Cl (mmol/l)	25	103,0	107,0	104,5	1,285

TABLA 7.-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 1 previo a la ovulación (*P4: progesterona; E2: estradiol-17 β ; REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALD: aldosterona; CORT: cortisol; HTO: valor hematócrito; Na: sodio; K: potasio; Cl: cloro*).

	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
P4 (ng/ml)	25	0,130	0,180	0,178	0,010
E2 (pg/ml)	25	36,90	49,02	44,62	3,580
REN (pg/ml)	25	2,100	3,400	2,446	0,553
ANG-II (ng/ml)	25	0,300	0,330	0,315	0,015
ALD (pg/ml)	25	462,2	617,0	535,3	71,49
CORT (ng/ml)	25	73,20	102,1	87,68	10,71
HTO (%)	25	30,00	41,00	37,83	3,911
Na (mmol/l)	25	140,0	149,0	142,2	3,283
K (mmol/l)	25	4,000	4,700	4,163	0,257
Cl (mmol/l)	25	105,0	110,0	107,4	1,442

TABLA 8.-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día de la ovulación (*P4: progesterona; E2: estradiol-17 β ; REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALD: aldosterona; CORT: cortisol; HTO: valor hematócrito; Na: sodio; K: potasio; Cl: cloro*).

	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
P4 (ng/ml)	25	0,280	0,580	0,565	0,061
E2 (pg/ml)	25	30,10	59,12	50,18	9,268
REN (pg/ml)	25	0,700	2,100	0,933	0,533
ANG-II (ng/ml)	25	0,200	0,270	0,247	0,028
ALD (pg/ml)	25	460,2	521,1	515,7	16,89
CORT (ng/ml)	25	61,00	71,00	68,22	3,630
HTO (%)	25	30,00	40,30	34,94	3,520
Na (mmol/l)	25	125,0	149,0	141,8	6,112
K (mmol/l)	25	3,300	5,600	4,508	0,573
Cl (mmol/l)	25	95,00	113,0	106,0	4,227

TABLA 9.-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE en el día 1 posterior a la ovulación (*P4*: progesterona; *E2*: estradiol-17 β ; *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALD*: aldosterona; *CORT*: cortisol; *HTO*: valor hematócrito; *Na*: sodio; *K*: potasio; *Cl*: cloro).

	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
P4 (ng/ml)	25	0,920	1,160	1,118	0,091
E2 (pg/ml)	25	21,20	39,25	37,26	5,038
REN (pg/ml)	25	0,340	1,300	0,500	0,366
ANG-II (ng/ml)	25	0,230	0,260	0,249	0,011
ALD (pg/ml)	25	456,7	513,3	495,2	14,75
CORT (ng/ml)	25	56,30	65,10	61,61	1,766
HTO (%)	25	30,10	37,80	34,01	2,335
Na (mmol/l)	25	136,0	149,0	141,2	3,279
K (mmol/l)	25	2,800	5,300	4,358	0,467
Cl (mmol/l)	25	104,0	115,0	106,2	2,776

TABLA 10.-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE en el día 2 posterior a la ovulación (*P4*: progesterona; *E2*: estradiol-17 β ; *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALD*: aldosterona; *CORT*: cortisol; *HTO*: valor hematócrito; *Na*: sodio; *K*: potasio; *Cl*: cloro).

	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
P4 (ng/ml)	25	1,350	1,680	1,625	0,125
E2 (pg/ml)	25	35,50	35,87	35,75	0,182
REN (pg/ml)	25	0,540	0,780	0,580	0,091
ANG-II (ng/ml)	25	0,210	0,240	0,224	0,011
ALD (pg/ml)	25	411,2	564,4	519,6	30,37
CORT (ng/ml)	25	59,20	67,30	65,46	2,953
HTO (%)	25	30,00	43,70	35,03	3,442
Na (mmol/l)	25	125,0	152,0	143,2	6,141
K (mmol/l)	25	3,200	5,200	4,083	0,709
Cl (mmol/l)	25	95,00	118,0	108,8	5,803

TABLA 11.-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE en el día 3 posterior a la ovulación (*P4*: progesterona; *E2*: estradiol-17 β ; *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALD*: aldosterona; *CORT*: cortisol; *HTO*: valor hematócrito; *Na*: sodio; *K*: potasio; *Cl*: cloro).

	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
P4 (ng/ml)	25	2,170	2,200	2,175	0,011
E2 (pg/ml)	25	31,90	32,10	31,98	0,066
REN (pg/ml)	25	0,800	1,200	0,867	0,152
ANG-II (ng/ml)	25	0,180	0,200	0,193	0,008
ALD (pg/ml)	25	513,4	584,2	548,2	22,24
CORT (ng/ml)	25	60,00	70,10	68,23	3,795
HTO (%)	25	30,30	43,70	35,01	4,310
Na (mmol/l)	25	136,0	149,0	141,2	4,797
K (mmol/l)	25	2,900	5,200	4,304	0,733
Cl (mmol/l)	25	101,0	118,0	106,3	3,953

TABLA 12.-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE en el día 4 posterior a la ovulación (*P4*: progesterona; *E2*: estradiol-17 β ; *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALD*: aldosterona; *CORT*: cortisol; *HTO*: valor hematócrito; *Na*: sodio; *K*: potasio; *Cl*: cloro).

	N	Mínimo	Máximo	Media	DS
P4 (ng/ml)	25	2,340	2,560	2,523	0,083
E2 (pg/ml)	25	31,17	31,37	31,30	0,096
REN (pg/ml)	25	0,830	1,400	1,095	0,152
ANG-II (ng/ml)	25	0,100	0,190	0,160	0,036
ALD (pg/ml)	25	478,1	591,4	576,1	26,71
CORT (ng/ml)	25	68,00	75,20	73,63	2,955
HTO (%)	25	30,10	43,70	35,41	3,810
Na (mmol/l)	25	137,0	149,0	140,5	2,413
K (mmol/l)	25	2,800	5,100	3,913	0,745
Cl (mmol/l)	25	101,0	113,0	104,4	2,620

TABLA 13.-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE en el día 5 posterior a la ovulación (*P4*: progesterona; *E2*: estradiol-17 β ; *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALD*: aldosterona; *CORT*: cortisol; *HTO*: valor hematócrito; *Na*: sodio; *K*: potasio; *Cl*: cloro).

El análisis de variación diario a lo largo del periodo considerado durante el ciclo estral reveló variaciones estadísticamente significativas en el diámetro folicular (Figura 1) y las concentraciones de P4 (Figura 2), E2 (Figura 3), REN (Figura 4), ANG-II (Figura 5), ALD (Figura 6), CORT (Figura 7), valor HTO (Figura 8), Na (Figura 9), K (Figura 10) y Cl (Figura 11).

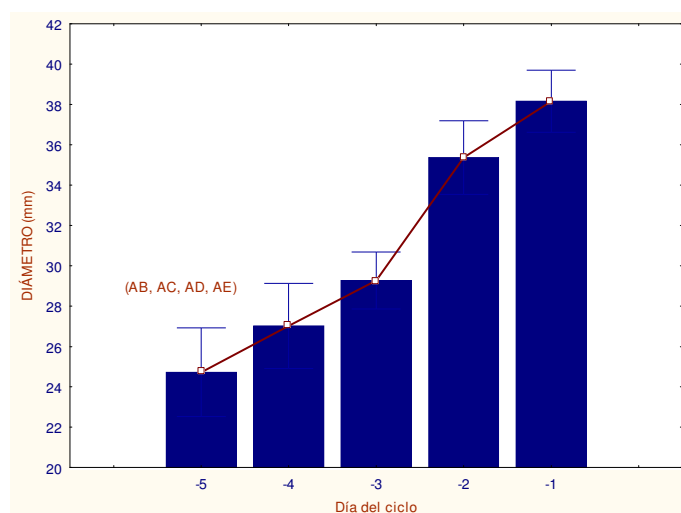


FIGURA 1.-Valores medios \pm DS del diámetro folicular a lo largo del periodo preovulatorio en las 25 yeguas PRE (*AB*: diferencias entre el día -5 y -4; *AC*: diferencias entre el día -5 y -3; *AD*: diferencias entre el día -5 y -2; *AE*: diferencias entre el día -5 y -1) ($p < 0,05$).

En la Tabla 14 se expresan el diámetro folicular medio y el grado de desarrollo folicular a lo largo del estro en la yegua PRE.

Días previos a la ovulación	-5	-4	-3	-2	-1
Diámetro medio (mm)	27,02	29,28	35,37	38,16	40,23
Tasa de crecimiento folicular (mm/día)	-	2,26	2,26	2,79	2,07

TABLA 14. Diámetro folicular medio diario y tasa de crecimiento del folículo preovulatorio en las 25 yeguas PRE

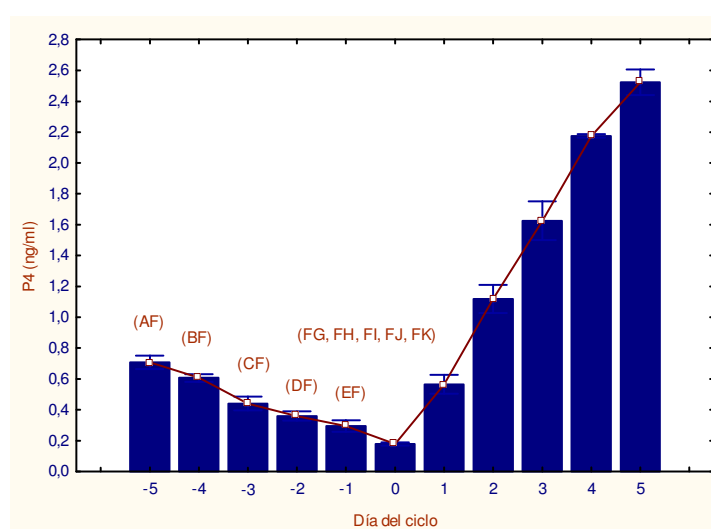


FIGURA 2.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de progesterona en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE (AF: diferencias entre el día -5 y 0; BF: diferencias entre el día -4 y 0; CF: diferencias entre el día -3 y 0; DF: diferencias entre el día -2 y 0; EF: diferencias entre el día -1 y 0; FG: diferencias entre el día 0 y 1; FH: diferencias entre el día 0 y 2; FI: diferencias entre el día 0 y 3; FJ: diferencias entre el día 0 y 4; FK: diferencias entre el día 0 y 5) ($p < 0,05$).

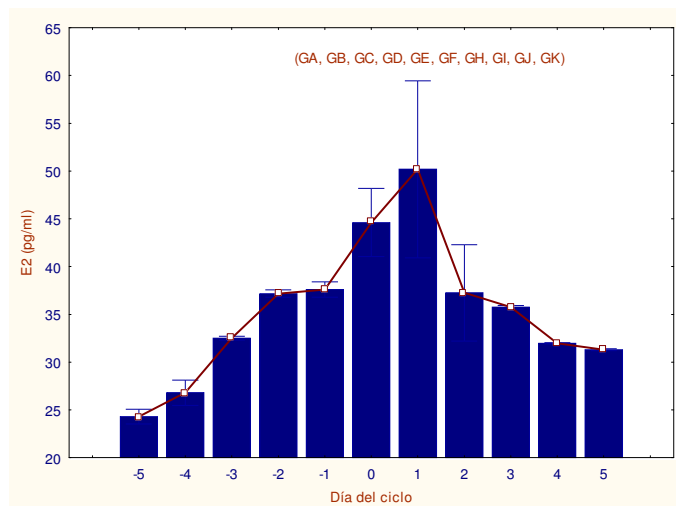


FIGURA 3.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de estradiol en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE (GA: diferencias entre el día 1 y -5; GB: diferencias entre el día 1 y -4; GC: diferencias entre el día 1 y -3; GD; diferencias entre el día 1 y -2; GE: diferencias entre el día 1 y -1; GF: diferencias entre el día 1 y 0; GH: diferencias entre el día 1 y 2; GI: diferencias entre el día 1 y 3; GJ: diferencias entre el día 1 y 4; GK: diferencias entre el día 1 y 5)($p < 0,05$).

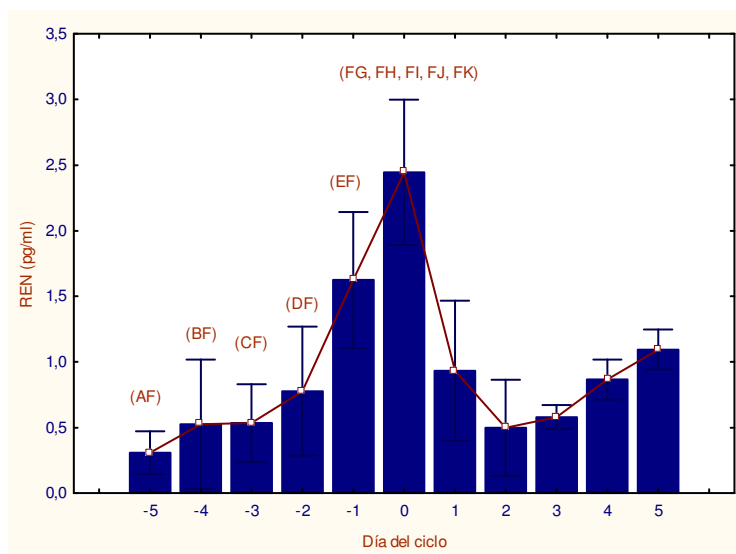


FIGURA 4.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de renina en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE (AF: diferencias entre el día -5 y 0; BF: diferencias entre el día -4 y 0; CF: diferencias entre el día -3 y 0; DF: diferencias entre el día -2 y 0; EF: diferencias entre el día -1 y 0; FG: diferencias entre el día 0 y 1; FH: diferencias entre el día 0 y 2; FI: diferencias entre el día 0 y 3; FJ: diferencias entre el día 0 y 4; FK: diferencias entre el día 0 y 5)($p < 0,05$).

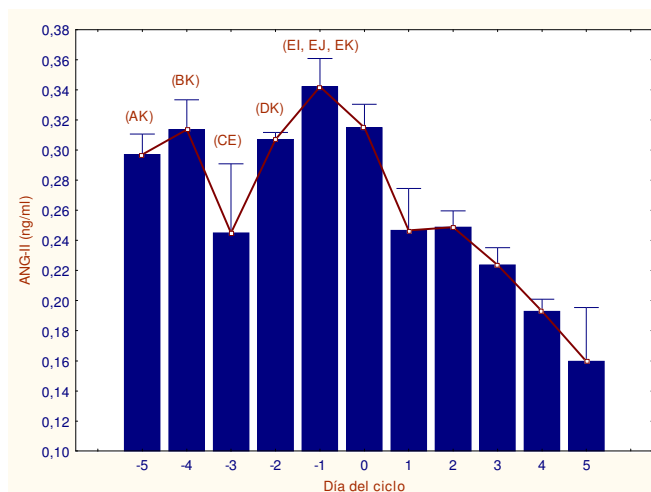


FIGURA 5.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de angiotensina II en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE (AK: diferencias entre el -5 y 5; BK: diferencias entre el día -4 y 5; CE: diferencias entre el día -3 y -1; DK: diferencias entre el día -2 y 5; EI: diferencias entre el día -1 y 3; EJ: diferencias entre el día -1 y 4; EK: diferencias entre el día -1 y 5) ($p < 0,05$).

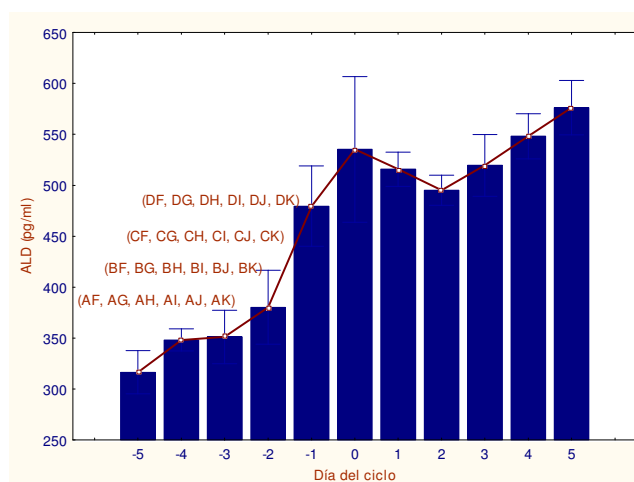


FIGURA 6.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de aldosterona en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE (AF: diferencias entre el día -5 y 0; AG: diferencias entre el día -5 y 1; AH: diferencias entre el día -5 y 2; AI: diferencias entre el día -5 y 3; AJ: diferencias entre el día -5 y 4; AK: diferencias entre el día -5 y 5; BF: diferencias entre el día -4 y 0; BG: diferencias entre el día -4 y 1; BH: diferencias entre el día -4 y 2; BI: diferencias entre el día -4 y 3; BJ: diferencias entre el día -4 y 4; BK: diferencias entre el día -4 y 5; CF: diferencias entre el día -3 y 0; CG: diferencias entre el día -3 y 1; CH: diferencias entre el día -3 y 2; CI: diferencias entre el día -3 y 3; CJ: diferencias entre el día -3 y 4; CK: diferencias entre el día -3 y 5; DF: diferencias entre el día -2 y 0; DG: diferencias entre el día -2 y 1; DH: diferencias entre el día -2 y 2; DI: diferencias entre el día -2 y 3; DJ: diferencias entre el día -2 y 4; DK: diferencias entre el día -2 y 5; FH: diferencias entre el día 0 y 2) ($p < 0,05$).

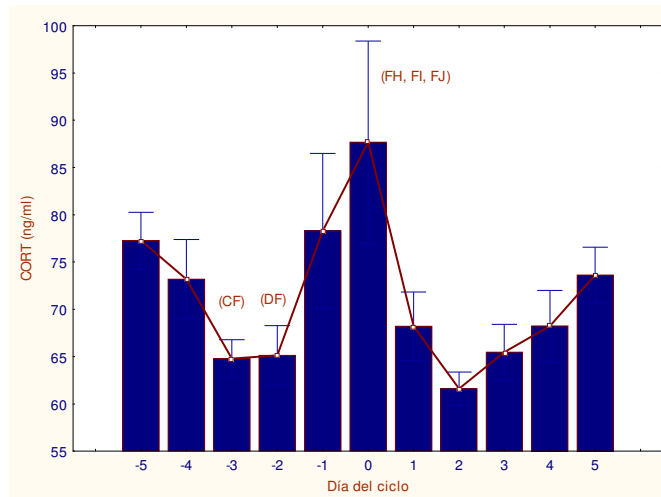


FIGURA 7.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de cortisol en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE (CF: diferencias entre el día -3 y 0; DF: diferencias entre el día -2 y 0; FH: diferencias entre el día 0 y 2; FI: diferencias entre el día 0 y 3; FJ: diferencias entre el día 0 y 4) ($p < 0,05$).

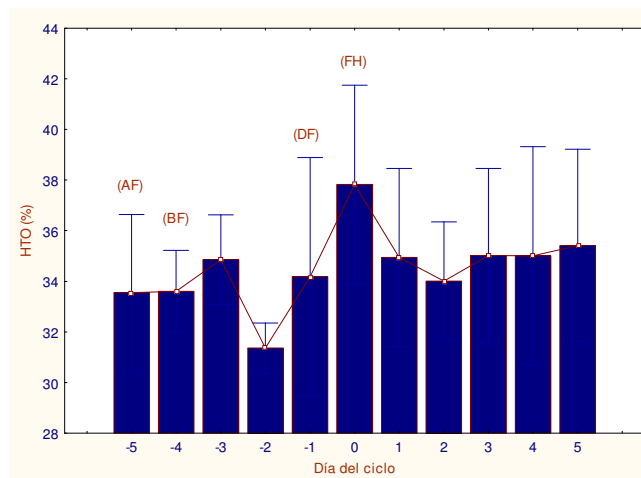


FIGURA 8.-Valores medios \pm DS del valor hematocrito en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE (AF: diferencias entre el día -5 y 0; BF: diferencias entre el día -4 y 0; DF: diferencias entre el día -2 y 0; FH: diferencias entre el día 0 y 2) ($p < 0,05$).

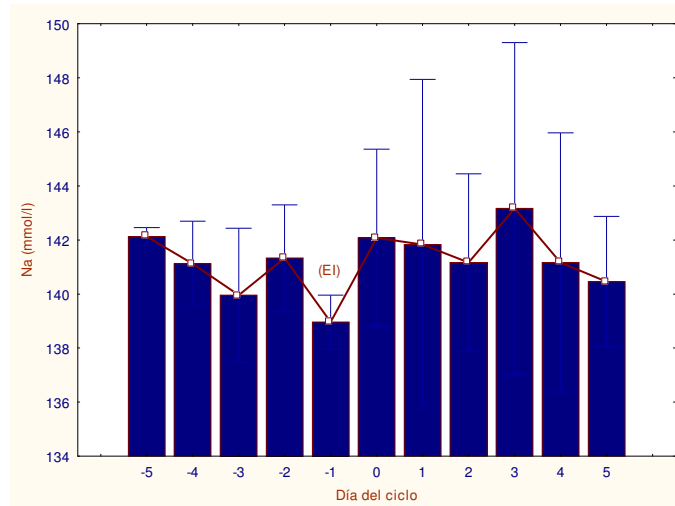


FIGURA 9.- Valores medios \pm DS de las concentraciones de sodio en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE (*EI: diferencias entre el día -1 y 3*) ($p < 0,05$).

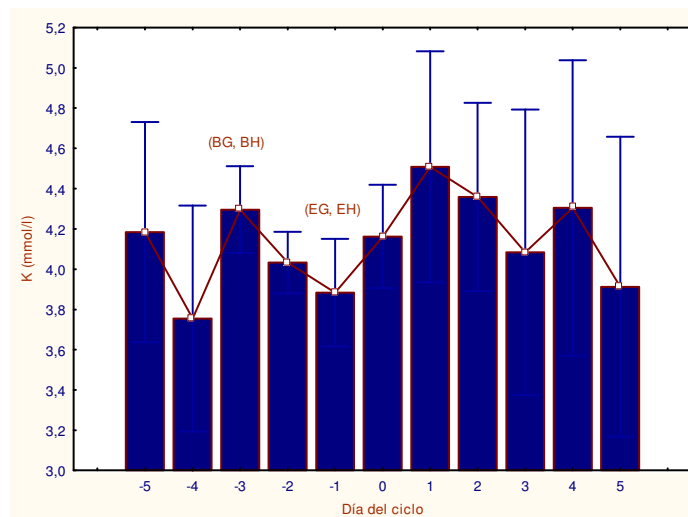


FIGURA 10.- Valores medios \pm DS de las concentraciones de potasio en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE (*BG: diferencias entre el día -4 y 1; BH: diferencias entre el día -4 y 2; EG: diferencias entre el día -1 y 1; EH: diferencias entre el día -1 y 2*) ($p < 0,05$).

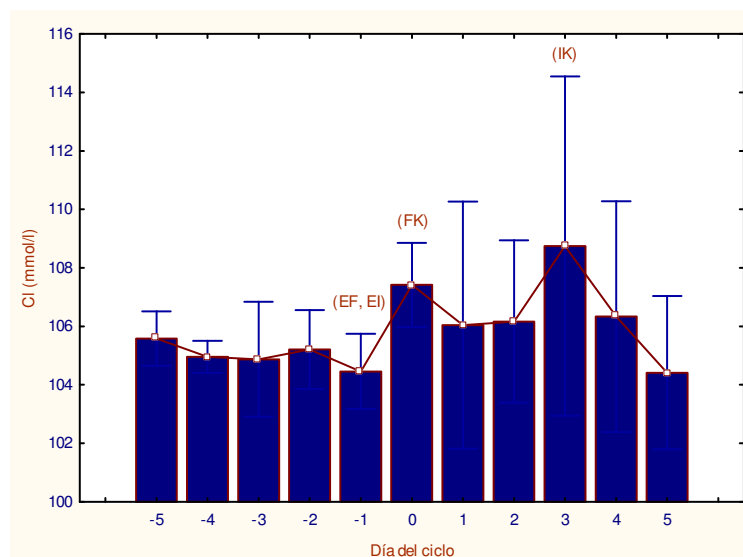


FIGURA 11.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de cloro en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE (*EF: diferencias entre el día -1 y 0; EI: diferencias entre el día -1 y 3; FK: diferencias entre el día 0 y 5; IK: diferencias entre el día 3 y 5*) ($p < 0,05$).

4.3.-CORRELACIONES ENTRE LOS DIVERSOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PRE

En el anexo (Tablas 15 y 16) se muestran los coeficientes de correlación para las variables hematológicas, bioquímicas y hormonales analizados en el efectivo total de yeguas PRE de forma independiente para la fase folicular y luteínica del ciclo estral.

5. DISCUSIÓN

La presente investigación evalúa los valores hematológicos, bioquímicos y hormonales basales de 25 yeguas PRE fisiológicamente normales no gestantes, durante un periodo de duración de 11 días a lo largo del ciclo estral y sobre un total de 275 extracciones sanguíneas. Se han considerado diversos factores que podrían condicionar modificaciones en la actividad de los componentes del SRAA (REN, ANG-II y ALD) durante dicho periodo como, el diámetro folicular, el valor HTO y las concentraciones de E2, P4, CORT y electrolitos (Na, K y Cl). A lo largo de la discusión se compararán los datos obtenidos con los presentados en la literatura para otras especies, incluida la mujer, haciendo especial referencia a los équidos, y se propondrán hipótesis para explicar los resultados obtenidos. Dentro de cada apartado, se justificarán las correlaciones obtenidas entre los diversos parámetros.

5.1.-PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE

5.1.1.-PARÁMETROS HORMONALES DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE

5.1.1.1.-SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA

5.1.1.1.1.-RENINA

Los niveles de REN en las yeguas de este estudio oscilaron entre 0,17 y 3,40 pg/ml, siendo el valor medio de $0,92 \pm 0,71$ pg/ml. Estos resultados fueron similares a los obtenidos en potros menores de un año de edad (*Muñoz y cols., 2012*) e inferiores a los descritos en équidos adultos (*Guthrie y cols., 1980; 1982*), ponis (*Broughton Pipkin y cols., 1982; Forhead y cols., 2000*) y yeguas no gestantes de la misma raza (*Domingo, 2008; Satué y Domingo, 2011; Satué y cols., 2011*). Haciendo alusión a la yegua gestante PRE y según estos últimos estudios, las concentraciones medias fluctuaron entre 1,44 y 9,26 pg/ml, con un valor medio de 4,180 pg/ml. En opinión de los autores, las diferencias en los niveles de REN entre yeguas cíclicas y gestantes podría reflejar el efecto marcado de la gestación sobre dicho parámetro, ya que en ambos casos se empleó la misma metodología para la cuantificación laboratorial. No obstante, a la hora de comparar los resultados de las investigaciones no deben obviarse factores como la alimentación o el programa de ejercicio que desarrollan los animales habitualmente.

Por un lado, la ingestión de dietas altamente energéticas y pobres en forraje en équidos destinados a entrenamiento u otras disciplinas ecuestres estimula la retención de fluidos en el compartimento gástrico, por lo que se establece un estado de hipovolemia

transitoria. Para preservar la homeostasis en tales situaciones, se activa de forma compensatoria el SRAA. Además, si estas raciones son de gran volumen, pueden acelerar su paso por el ciego y provocar fermentaciones anómalas de larga duración. Dichos procesos requieren de nuevo movimientos de fluidos a la luz del ciego, que en parte, inducen liberación de ALD (*Clarke y cols., 1990; 1992*). Cabe destacar que la toma de muestras a las yeguas de esta investigación siempre se realizó en ayunas, por lo que en principio, podría destacarse el efecto de la dieta. No obstante, *Domingo (2008)* y *Satué y cols. (2011)* sugirieron que la suplementación alimenticia administrada a las yeguas tal vez podría haber condicionado parcialmente el incremento de REN durante el periodo gestacional.

Por el contrario, en caballos PSI (*McKeever y cols., 1992*), Standardbred (*Andersson y cols., 1987*) y équidos de otras razas (*Muñoz y cols., 2010 a, b*) se alcanzaron valores medios superiores a los de la yegua PRE de este estudio. Cabe mencionar que estos animales estaban sometidos diariamente a regímenes de entrenamiento intensos. Se conoce que el ejercicio estimula de forma compensatoria el SRAA, y por tanto los niveles basales de REN, ya que este parámetro se relaciona estrechamente con el control de la función cardiovascular, el balance hídrico y el estrés durante la actividad deportiva (*McKeever y cols., 1992; Cooley y cols., 1994; McKeever y Hinchcliff, 1995; Muñoz y cols., 2010, a, b*). En relación al tipo de ejercicio es interesante puntualizar que la deshidratación y los desequilibrios electrolíticos que acompañan a ejercicios de resistencia muestran una activación más intensa del SRAA que otros tipos de competiciones deportivas en équidos (*Muñoz y cols., 2010 a, b*). Por este motivo, son esperables reninemias significativamente superiores en competiciones de resistencia respecto a otros tipos de disciplinas ecuestres.

5.1.1.1.2.-ANGIOTENSINA II

Las concentraciones de ANG-II en la yegua PRE estuvieron comprendidas dentro del intervalo de referencia descrito en équidos adultos sanos (*Broughton Pipkin y cols., 1982; Ibarra-Rubio y cols., 1989; Hinckley y cols., 1996*), potros PRE menores de 1 año (*Muñoz y cols., 2012*) y yeguas no gestantes PRE (*Satué y Domingo; Satué y cols., 2011*). Sin embargo, en yeguas gestantes de la misma raza se han mostrado valores medios significativamente superiores (*Satué y Domingo, 2011; Satué y cols., 2011*). Mientras que el intervalo de referencia osciló entre 0,05 y 7,66 ng/ml en yeguas gestantes, el margen de variación fue significativamente inferior en yeguas cíclicas, con valores comprendidos entre 0,10 y 3,18 ng/ml, similares al del grupo control considerado

específicamente en el estudio de *Satué y Domingo (2011)*. Esta diferencia entre resultados podría estar condicionada nuevamente por la gestación, ya que el valor medio en yeguas gestantes fue casi dos veces superior al de yeguas cíclicas, siendo la metodología empleada en la cuantificación laboratorial la misma en ambos casos.

En ponies Welsh (*Forhead y cols., 2000*) se han reportado valores medios superiores a los de la yegua PRE de este estudio, volviendo a remarcar de nuevo el carácter marcado de la gestación sobre dicho parámetro en la yegua. No obstante, los datos de este último estudio corresponden a niveles maternos y fetales en el segundo periodo de gestación. Se ha hipotetizado que la ANG-II juega un papel crucial en la regulación de la circulación fetoplacentaria, facilitando el flujo sanguíneo adecuado para la correcta oxigenación y nutrición fetal (*Nielsen y cols., 2000; Shibata y cols., 2006*). Por este motivo, es esperable que este péptido se eleve en los tejidos maternos y fetales, como ha sido mostrado en la mujer (*Tao y cols., 2007*) y en la oveja (*Forhead y cols., 1997*). No obstante, determinados factores como, el balance de Na y el estrés del momento del parto, también se han considerado como causas potenciales de las variaciones en este parámetro (*Broughton Pipkin y Baker, 1997; Jansson y cols. 2010*).

Por el contrario, en équidos sometidos a ejercicio de resistencia *Muñoz y cols. (2010, a, b)* mostraron niveles medios significativamente superiores al de las yeguas del presente estudio. Al igual que sucede con la REN, la deshidratación inducida por el ejercicio induce de forma compensatoria incremento de este péptido relacionado con su actividad vasoconstrictora, ya que estimula la retención de Na a nivel renal y por consiguiente, la liberación de ALD (*Muñoz y cols., 2010, b*).

5.1.1.1.3.-ALDOSTERONA

Los niveles de ALD en la yegua PRE fluctuaron entre 223,1 y 617,0 pg/ml, siendo su valor medio de 460,5 pg/ml. Este rango fue significativamente superior en un estudio previo realizado por *Satué y Domingo (2011)* en yeguas no gestantes de la misma raza, oscilando entre 120,4 y 722,6 pg/ml. Cabe destacar que en este último estudio únicamente se emplearon 11 animales, por lo que las diferencias entre los resultados primariamente, podrían estar relacionadas con el número de animales considerados en las investigaciones. Además, el valor medio en la yegua PRE fue 1,68 y 11,80 veces superior al obtenido en yeguas de otras razas por *Haffner y cols. (2010)* y *Fecteau y cols. (2005)*, respectivamente. Estas discrepancias entre resultados en principio, no podrían relacionarse con la metodología, ya que en todos los estudios se utilizó la misma técnica de cuantificación, aunque no debe obviarse el efecto de la edad. Mientras que en este

estudio se emplearon yeguas con un amplio rango de edad (5-15 años), en las investigaciones de *Fecteau y cols. (2005)* y *Haffner y cols. (2010)* se consideraron yeguas de edad media 6,4 años. Se ha sugerido que las concentraciones medias de ALD se incrementan en équidos adultos frente a la de animales jóvenes (*Fuller, 2006; Muñoz y cols., 2012*) por lo que en parte, las diferencias entre los estudios podrían derivarse del efecto de la edad de los animales.

Investigaciones previas realizadas en yeguas gestantes de esta misma raza por *Domingo (2008)*, *Satué y Domingo (2011)* y *Satué y cols. (2011)* también mostraron valores de ALD 1,067 veces superiores a los obtenidos en las yeguas de este estudio. Estas diferencias podrían sugerir el efecto de la gestación sobre dicho parámetro, ya que la gestación condiciona incremento marcado de la secreción adrenal (*Gennari-Moser y cols., 2011*). Aunque el factor que podría intervenir mayoritariamente en la secreción de ALD se relaciona con el estado reproductivo, no se descarta la intervención de otros factores genéticos o ambientales en las discrepancias de los resultados de las diversas investigaciones.

Por el contrario, en équidos entrenados de diversas razas, como Standardbred (*McKeever, 2002; Jansson y cols., 2010*), PSI (*Guthrie y cols., 1980; Harris, 1993; McKeever y Malinowski, 1999*) y otras razas equinas (*Michaux y cols., 1987; Clarke y cols., 1988; Muñoz y cols., 2010, a, b*) se han mostrado valores medios inferiores a los de las yeguas PRE. Este hallazgo fue inesperado ya que el ejercicio condiciona elevadas pérdidas de fluidos y Na a través del sudor, modificando el volumen sanguíneo, la presión arterial y la tonicidad plasmática. En tales circunstancias, se activa la cascada de mecanismos neuroendocrinos implicados en la defensa de la homeostasis interna, finalizando con la síntesis de ALD, que actúa proporcionando el aporte sanguíneo adecuado a los músculos metabólicamente activos y otros tejidos vitales para restablecer la natremia (*McKeever y Gordon, 2004; Muñoz y cols., 2007; Jansson y cols., 2010; Muñoz y cols., 2010 a, b*).

Como se ha expresado previamente, aunque la gestación y el efecto del ejercicio condicionan modificaciones notables en la aldosteronemia, las yeguas de este estudio presentaron concentraciones circulantes de ALD superiores a las de potros y caballos adultos sanos (*Gehlen y cols., 2008; Haffner y cols., 2010*). Estas diferencias podrían relacionarse con la secreción de REN, ACTH, reducción de la natremia, incremento de la calemia, el balance hídrico, y la acidosis o la dieta, ya que son factores que modifican fisiológicamente los niveles de ALD en équidos (*Fuller, 2006; Muñoz y cols., 2006; 2010, a*).

5.1.1.2.-CORTISOL

Aunque el nivel medio de CORT para la totalidad de las yeguas de este estudio estuvo comprendido dentro de los rangos fisiológicos de referencia descritos para équidos adultos (*Hoffsis y cols., 1970; James y cols., 1970; van der Kolk, 1998; Smith, 2002; Place y cols., 2010*), algunas investigaciones realizadas en diversas razas, como Standardbred, PSI, cruzados y ponis (*Guthrie y cols., 1980; Alexander e Irvine, 1987; Irvine y Alexander, 1994; Cudd y cols., 1995; Alexander e Irvine, 1998; Van der Kolk y cols., 2001; Chandler y Dixon, 2002*) y potros (*Hurcombe y cols., 2008*) han descrito valores medios inferiores.

En comparación con los datos aportados en yeguas PRE y otros équidos adultos, es un hallazgo interesante destacar los bajos niveles de CORT encontrados en potros. Se ha especulado que las diferencias podrían relacionarse con la mayor interacción entre la hormona y los tejidos diana, debido a la intensa participación y grado de metabolismo necesarios durante el periodo neonatal (*Toribio, 2004*).

En yeguas vacías, *Gill y cols. (1985)* mostraron niveles medios de CORT 20% superiores al de yeguas gestantes. Estas diferencias podrían corroborar en principio, los datos aportados en esta y otras investigaciones precedentes realizadas en la yegua PRE. Mientras que en yeguas gestantes las concentraciones medias fueron de 55,63 ng/ml (*Domingo, 2008; Satué y Domingo, 2011; Satué y cols., 2011*), en yeguas vacías la cortisolemia alcanzó niveles 1,28 veces superiores a los anteriores. En opinión de los autores, estas diferencias podrían interpretarse en base a las variaciones en el metabolismo del CORT, más intenso en yeguas preñadas y lactantes que en yeguas vacías (*Fazio y cols., 2011*).

No obstante, en yeguas de raza árabe se han descrito valores medios inferiores a los de la yegua PRE, si bien, los animales se encontraban en el mismo momento del ciclo estral (*Gill y cols., 1985; AboEl-Maaty, 2011*). Estas diferencias podrían estar relacionadas con la influencia de factores diversos íntimamente vinculados a la estación reproductiva de la zona en las que se realizaron los estudios como, el fotoperiodo, clima y temperatura, sistema de manejo, incremento de la secreción de gonadotropinas, metabolismo esteroideogénico en el momento del estro, dieta, estrés relacionado con la conducta de celo y periodo de cubrición o inseminación (*Asa y cols., 1983; Flisinska-Bojanowska y cols., 1989; 1991, a; Harewood y McGowan, 2005; Fazio y cols., 2011*).

En la interpretación de los resultados debe tenerse en cuenta la ritmicidad circadiana y/o estacional o circannual del CORT. Dichos patrones de CORT han sido puestos de manifiesto en yeguas gestantes (*Gill y cols., 1985; Flisinska-Bojanowska y*

cols., 1991, a; Fazio y cols., 2009), vacías (Gill y Kompanowska-Jeziarska, 1986; Gill y cols., 1994) y lactantes (Gill y cols., 1985; Flisinska-Bojanowska y cols., 1989; 1992) de diversas razas equinas. Estas variaciones en la ciclicidad, que pueden llegar a cifrarse en un 400-700% entre yeguas cíclicas, gestantes y potros, son indicativas de que la secreción y metabolismo adrenal se ajustan a las necesidades metabólicas según el estado fisiológico y la edad de los animales, dependiendo de la época del año.

Finalmente, en animales entrenados de diversas razas equinas, como PSI (Guthrie y cols., 1980; Ralston y cols., 1988; Lindner y cols., 1990; Van Heerden y cols., 1990; McKenna y cols., 1993), Standardbred (Ralston y cols., 1988; Lassourd y cols., 1996), caballos trotones (Persson y cols., 1980; Hagedorn y Schulz, 1997), caballos de salto (McKenna y cols., 1993; Cravana y cols., 2010), concurso completo de equitación (Medica y cols., 2010), potros PRE (Muñoz y cols., 2012) y otras razas equinas (Strzelec y cols., 2011) se han descrito niveles de CORT en reposo superiores al de las yeguas del presente estudio. Este incremento de la cortisolemia indicaría una mayor respuesta adrenal debido a las demandas energéticas que impone el ejercicio, que al mismo tiempo están relacionadas con la intensidad y la duración del mismo (Gordon y cols., 2007; Strzelec y cols., 2011).

5.1.1.3.-DIÁMETRO FOLICULAR, ESTRADIOL-17 β Y PROGESTERONA

Debido a la implicación de las hormonas esteroideas en los procesos fisiológicos reproductivos que acontecen a lo largo del ciclo estral, las evoluciones del diámetro folicular y las concentraciones de E2 y P4 y la relación existente con el resto de parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales analizados, serán discutidos en el apartado correspondiente a las variaciones hormonales derivadas del ciclo estral en la yegua PRE.

5.1.2.-PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE

5.1.2.1.-VALOR HEMATÓCRITO

El valor HTO medio de la yegua PRE, aunque estuvo comprendido dentro de los rangos fisiológicos de referencia para la especie equina (Plotka y cols., 1988; Ralston y cols., 1988; Morris, 1990; Latimer y Rakich, 1992; Lassen y Swardson, 1995; Messer, 1995; Greppi y cols., 1996; Piccione y cols., 2001; Edner y cols., 2007; Gul y cols., 2007; Lording, 2008), fue inferior a los datos presentados en caballos PSI (Lassen y Swardson, 1995), Lipizianos (Cebulj-Kadunc y cols., 2002), trotones Standardbred, Cuartos de Milla,

Appaloosa y Árabes (*Knill y cols., 1969; Schalm y cols., 1975; Schalm y Carlson, 1982; Harvey y Hambright, 1985; Jain, 1993; Lassen y Swardson, 1995; Kastner y cols., 1999; Wickler y Anderson, 2000; Piccione y cols., 2008*) y similar a los obtenidos en Clydesdale, Percherón y caballos Miniatura (*Schalm y cols., 1975; Harvey y Hambright, 1985*).

Cabe mencionar que los resultados reportados en yeguas Cartujanas por *Satué y cols. (2010)* difieren considerablemente de los obtenidos en este estudio. En principio las diferencias entre ambas investigaciones podrían relacionarse con la metodología empleada en las determinaciones hematológicas. Así, mientras *Satué y cols. (2010)* utilizaron un método de análisis semiautomático, en el presente estudio, el microhematócrito fue la técnica de determinación del HTO. El método semiautomático considera la fracción del volumen de sangre entera ocupada por los hematíes, mientras que la columna de plasma que queda retenida entre las células sanguíneas es prácticamente nula con el uso del microhematócrito.

A la hora de interpretar los resultados de la serie roja en el equino es relevante considerar la variedad racial. A nivel hematológico, los animales se clasifican en dos grandes categorías: de sangre caliente y de sangre fría. La variedad de sangre caliente (*hot-blooded*) comprende a la mayor parte de los caballos de deporte, como PSI, Árabes, Angloárabes, Appaloosas, Cuartos de Milla, trotones Standardbred, etc. La variedad de sangre fría (*cold-blooded*) recoge a las razas pesadas, como Percherón, Clydesdale y las razas de ponis (*Jain, 1993; Parry y Brobt, 1997*). En comparación con animales de sangre fría, la variedad de sangre caliente presenta incremento del número de eritrocitos, concentración de HB y valor HTO (*Messer, 1995; Lassen y Swardson, 1995; Parry y Brobst, 1997*). Estas variaciones a su vez derivan del temperamento, capacidad esplénica y requerimientos energéticos, mayores en aquellas razas mejor adaptadas al ejercicio (*Tyler-McGowan y cols., 1999; Piccione y cols., 2007; Satué y cols., 2009*).

Los valores medios del valor HTO en la PRE fueron ligeramente inferiores a los citados previamente en animales entrenados de esta misma raza (*Rubio y cols., 1994; 1995; Escribano y cols., 1995, a, b*). Se conoce que el entrenamiento diario eleva los parámetros eritrocitarios por redistribución de eritrocitos en el pool circulante, tras esplenotomía, inducido por un mecanismo α -adrenérgico que actúa sobre la musculatura lisa del bazo (*Rose y Hodgson, 1994; Wood y Fedde, 1997*). Por otro lado, el ejercicio también induce movimiento extracelular de fluidos, que podría ser compensado parcialmente por la activación del SRAA, que motiva una mayor retención de Na y agua a nivel renal, con el consiguiente efecto de hemodilución a nivel de sangre periférica (*McKeever, 2002*).

Otros de los aspectos a considerar en la interpretación de los parámetros del eritrograma son el manejo de la muestra, la actitud y grado de excitación del animal, la edad, el momento del día y la distribución estacional de las extracciones sanguíneas (Jain, 1993; Rose y Hodgson, 1994; Car, 2000). De hecho, algunas investigaciones han revelado que la excitación tras la contención física en el momento de la venipunción conlleva una elevación substancial del valor HTO. Este hecho se produce como consecuencia de la esplencontracción inducida por la acción de la adrenalina y de la noradrenalina (Kurosawa y cols., 1998; Nagata y cols., 1999). La bibliografía ha descrito ampliamente que el avance de la edad induce reducción de la eritrocitemia en équidos de diversas razas como, Standardbred (Ralston y cols., 1988), Lipizianos (Cebulj-Kadunc y cols., 2002), équidos salvajes (Plotka y cols., 1988), yeguas PRE (Satué y cols., 2008; 2009), Cartujanas (Satué y cols., 2009) y otras razas equinas (McFarlane y cols., 1998). Aunque dicho factor no ha sido considerado en el análisis estadístico en el presente estudio, no se descarta su posible influencia sobre los resultados.

Con referencia al momento del día, la venipunción en las yeguas de este estudio siempre se realizó por la mañana, en régimen de ayuno. Se conoce que la alimentación induce una ligera hemoconcentración, derivada de la pérdida de fluidos con la salivación e incremento del flujo sanguíneo hacia el tracto gastrointestinal (Sufit y cols., 1985), minimizando las posibles modificaciones derivadas de la alimentación sobre el valor HTO (Greppi y cols., 1996). Además, la obtención de muestras se realizó en primavera, bajo condiciones climatológicas y de alimentación más adecuadas para la realización de actividad física. Aunque no podemos precisar exactamente el grado de contribución, tal vez estos acontecimientos podrían haber influido sobre los resultados de este estudio. No obstante, estos resultados en la yegua PRE contrastan con los obtenidos en yeguas cíclicas de raza árabe (Gill y Kompanowska-Jeziarska, 1986) y PSI (Gill y Wanska, 1978) y gestantes de raza árabe (Gill y Kownacka, 1979). De hecho, en estas últimas investigaciones el valor HTO se incrementa considerablemente en otoño e invierno, respecto a otras estaciones del año. En la bibliografía se cita que la altitud, la temperatura ambiental y el fotoperiodo son factores que estimulan la adaptación estacional en équidos (Wickler y Anderson, 2000). De hecho, la alternancia de periodos de luz y oscuridad perturba significativamente la actividad eritropoyética de la médula ósea (Hauss, 1994), a pesar de las modificaciones circadianas, infradianas y ultradianas a los que está sometido dicho parámetro (Piccione y cols., 2001; 2008).

Finalmente, el valor HTO medio en la yegua PRE fue ligeramente inferior al obtenido en yeguas gestantes (Plaschka y cols., 1996; Satué, 2004; Domingo, 2008; Satué y Domingo, 2011; Satué y cols., 2011), puerperales (Manso y cols., 1998) y no

gestantes (*Plaschka y cols., 1993*) de la misma raza, yeguas vacías PSI (*Gill y Wanska, 1978*) y gestantes de otras razas, como PSI (*Mason y Kwok, 1977; Harvey y cols., 1994; Taylor Macallister y cols., 1997*), Quarter Horse (*Harvey y cols., 1994; Taylor Macallister y cols., 1997*), Árabes (*Berlink y cols., 2000*), Brasileñas (*Galindo y cols., 2007*) y Cartujanas (*Satué y cols., 2010*) y superior al descrito en yeguas Bretonas (*Galindo y cols., 2007*). Estas diferencias entre yeguas grávidas e ingrávidas podrían derivarse del efecto de la gestación, si bien, con ligeras variaciones, la yegua cíclica PRE difiere poco en relación al valor HTO de yeguas vacías y preñadas de esta y otras razas equinas.

5.1.3.-PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE

5.1.3.1.-CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ELECTROLITOS

5.1.3.1.1.-SODIO

Los valores medios de Na en la yegua PRE fueron similares a los descritos previamente en la bibliografía para équidos adultos sanos (*El Amrousi y Soliman, 1965; Lumsden y cols., 1980; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006; 2010, c*), yeguas PSI (*Kinslow y cols., 1995*), árabes (*Meliani y cols., 2011*), ponis (*Ali y cols., 2010*) y otras razas equinas (*Collins y cols., 1997*) en el mismo estadio del ciclo reproductor. No obstante, en yeguas gestantes de la misma raza (*Plaschka y cols., 1996; Domingo, 2008; Satué y Domingo, 2011*), Standardbred, Saddlebred y Morgan (*Harvey y cols., 1994; 2005*), y yeguas no gestantes PSI (*Rose, 1985*), Quarter Horse (*Harvey y cols., 1994; 2005*) se han mostrado cifras ligeramente superiores. No obstante, algunos autores indican como fisiológicos niveles superiores a estos últimos (*Soliman y Nadim, 1967; Rose y cols., 1980*). Las explicaciones razonables a estas variaciones podrían relacionarse con las condiciones climáticas de humedad y temperatura, región geográfica en la que se realizó la investigación, momento estacional de la toma de muestras, efecto de dieta, entrenamiento y ejercicio, sudoración así como el estado fisiológico de los animales (*Waller y cols., 2006; Bashir y Rasedee, 2009; Muñoz y cols., 2010, c; Waller y cols., 2010*) ya que la edad parece no influir significativamente sobre la natremia en équidos (*El Amrousi y Soliman, 1965*).

5.1.3.1.2.-POTASIO

El nivel medio de K también estuvo comprendido dentro de los límites de referencia para équidos adultos sanos (*El Amrousi y Soliman, 1965; Art y cols., 1990; Rose y Hodgson, 1994; Ecker y Lindinger, 1995; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan,*

1999; Muñoz y cols., 2006; 2010, c). En relación al ciclo reproductor, las concentraciones plasmáticas medias de K en la yegua PRE fueron similares a las descritas en yeguas PSI (Kinslow y cols., 1995), ponis (Ali y cols., 2010), árabes (Meliani y cols., 2011), Standardbred (Lumsden y cols., 1980) y otras razas equinas (Collins y cols., 1997) durante el mismo periodo del ciclo.

En animales de la misma raza se han establecido niveles superiores en yeguas cíclicas (Plaschka y cols., 1996) e inferiores en yeguas gestantes (Domingo, 2008; Satué y Domingo, 2011). Estas diferencias podrían relacionarse con las necesidades metabólicas específicas durante el ciclo reproductivo, el efecto de la dieta administrada a los animales y la región geográfica en la que se realizó el estudio, entre otros, ya que son factores que modifican fisiológicamente los niveles de K en équidos

5.1.3.1.3.-CLORO

Las concentraciones plasmáticas medias de Cl en la yegua PRE estuvieron comprendidas dentro del intervalo fisiológico para équidos adultos (Art y cols., 1990; Rose y Hodgson, 1994; Ecker y Lindinger, 1995; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006, 2010, c). No obstante, se han descrito valores medios similares en yeguas cíclicas (Kinslow y cols., 1995; Collins y cols., 1997) y gestantes (Lumsden y cols., 1980) de otras razas y superiores en yeguas gestantes de la misma raza (Domingo, 2008; Satué y Domingo, 2011) y Quarter Horse, Standardbred, Saddlebred y Morgan (Harvey y cols., 1994; 2005).

En la valoración del equilibrio hidroelectrolítico en équidos, es importante destacar la contribución del sudor a las variaciones que podrían producirse en las concentraciones de Na y Cl, ya que son los principales cationes presentes en el sudor equino (McConaghy y cols., 1995; Muñoz y cols., 2006). Así, factores como la región geográfica, condiciones climatológicas de la zona en la que se realizó el estudio y los programas de entrenamiento o ejercicio impuestos a los animales, podrían ser estar relacionados en principio, con las variaciones encontradas entre los diversos estudios.

5.2.-EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PRE

Los componentes de la cascada del SRAA engloban cuatro órganos esenciales: el riñón, productor de renina, el hígado, lugar de síntesis de AOPEN, el lecho vascular pulmonar, sobre el que actúa la enzima convertidora de ANG-I en ANG-II o convertasa

(ECA) y la corteza adrenal, lugar en el que se produce la síntesis de ALD (*Cunningham, 2003; Atlas, 2007; Otte y Spier, 2009*). En opinión de los autores, resulta importante para el veterinario clínico de équidos conocer la dirección y magnitud de estos cambios durante el ciclo reproductor, al proporcionar una ayuda práctica para el diagnóstico de patologías que podrían cursar con hallazgos endocrinológicos, hematológicos y bioquímicos similares. Además, se podrían establecer rangos de referencia más estrechos para yeguas PRE en diferentes momentos del ciclo reproductor.

En este apartado se analizarán los cambios laboratoriales acontecidos a lo largo del ciclo estral, considerándose para ello el intervalo de tiempo comprendido entre el día 5 pre y 5 post-ovulación, considerando el momento 0 el día de la ovulación.

5.2.1.-EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS HORMONALES DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PRE

5.2.1.1.-SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA

5.2.1.1.1.-RENINA

El ciclo estral originó modificaciones importantes en las concentraciones de REN en sangre periférica en la yegua PRE, mostrando dos picos máximos de secreción. El primero de ellos, más intenso, se reveló el día de la ovulación, mientras que el segundo se produjo al final del periodo considerado en este estudio. En yeguas gestantes de la misma raza, *Domingo (2008)* y *Satué y Domingo (2011)* mostraron una elevación significativa de las concentraciones de REN durante el segundo y tercer periodo de gestación, con niveles medios en cada periodo superior al de las yeguas de este estudio. Esta elevación substancial de REN origina un estado de *hiperrreninemia* durante el tercer periodo de gestación. En opinión de los autores, estas diferencias tan notables entre yeguas gestantes e ingravidas sugieren que este parámetro está determinado por la gestación en yeguas reproductoras.

La dinámica ovulatoria de la REN en la yegua PRE confirma los resultados de investigaciones precedentes realizadas en la mujer (*Sundsford y Aakvaag, 1973; Kaulhausen y cols., 1978; Loret de Mola y cols., 1999*) y animales de investigación, como, ratas (*de Vito y cols., 1988; 1989*) y babuinos (*Harewood y cols., 1996*). No obstante, los mecanismos fisiológicos desencadenantes son distintos en relación a la especie.

En la mujer, esta dinámica de la reninemia se ha relacionado con la liberación de LH o con el efecto de la administración exógena de la gonadotropina coriónica humana (HCG), sugiriendo el control estricto de las gonadotropinas sobre la secreción de REN

durante el ciclo estral (*Loret de Mola y cols., 1999*). De hecho, hacia el momento de la ovulación se establece un pico simultáneo transitorio circulante de FSH, LH y PROREN (*Sealey y cols., 1985; 1986; 1987*), que posteriormente será precursora de la REN activa (*Bouhnik y cols., 1985*). El pico preovulatorio de PROREN a su vez está relacionado con el efecto estimulador directo de los estrógenos sobre la síntesis de AOGEN (*Katz y Kappas, 1967*). En la yegua PRE las correlaciones encontradas entre los niveles de E2 y REN fueron altamente significativas, por lo que en principio no se descarta la influencia del E2 sobre la síntesis de REN hacia el momento de la ovulación. No obstante, en roedores, *de Vito y cols. (1988)* sugirieron la intervención de otros metabolitos esteroideos relacionados con el E2, aunque no directamente este esteroide, sobre la síntesis de REN en el momento del estro.

Por el contrario, un estudio realizado por *Harewood y cols. (1996)* en babuínos rebatió estas hipótesis iniciales planteadas en la mujer y otros animales de experimentación sobre la síntesis preovulatoria de REN, si bien con evoluciones similares. Mientras que el pico preovulatorio de REN se asocia con la liberación de gonadotropinas, AOGEN y PROREN en la mujer y roedores, en babuínos se produce de forma secundaria a la retención de fluido intersticial en la región perineal. Tras la finalización de la fase folicular, el líquido extracelular acumulado es autoinfundido al VP, dando comienzo a la fase luteal. Así, durante la fase folicular se produce regresión, mientras que en el periodo luteal se relaciona más marcadamente expansión del VP. Simultáneamente a las variaciones de fluidos, la ARP permanece activa durante la fase folicular, quedando bloqueada durante el diestro, a pesar de la inhibición de la ECA en ambas fases (*Sanders y cols., 2006*).

Aunque otro de los factores relacionados directamente con la elevación ovulatoria de REN en la mujer se relaciona con la acción de la ACTH (*Brown y cols., 1972; Kem y cols., 1975*), estos acontecimientos parecen discutirse en la yegua. De hecho, aunque las correlaciones halladas entre la REN y el CORT ($r=0,54$) denotan un cierto grado de relación, no revelan una implicación directa del CORT sobre la síntesis de REN, por lo que deberían existir otros factores relacionados con la liberación de REN durante este periodo. Determinados factores relacionados con modificaciones hemodinámicas y cambios en el flujo sanguíneo renal, variaciones en las concentraciones de Na a nivel de la mácula densa o bien, alteraciones en la actividad simpática local también se han relacionado con las variaciones en las concentraciones de REN durante el periodo ovulatorio en la mujer (*Yang y cols., 2000; Sealey y Laragh, 2011*). No obstante, aunque estos mismos factores podrían haber contribuido al pico ovulatorio de REN en la yegua PRE, se necesitarían nuevos estudios de investigación para esclarecer estos hechos.

Entre los hechos más notables puestos de manifiesto a lo largo del ciclo estral en la mujer destaca el incremento de la síntesis de REN durante el periodo luteal (*Brown y cols., 1964; Sundsfjord y Aakvaag, 1970; Robertson y cols., 1971; Sundsfjord, 1971; Katz y Romfh, 1972; Sundsfjord y Aakvaag, 1972; Kaulhausen y cols., 1978; Sealey y cols., 1985; 1987; Magness y Rosenfeld, 1989; Magness, 1993; Sealey y cols., 1994; Chapman y cols., 1997; Miller y cols., 1999; Spaanderman y cols., 2000; Chidambaram y cols., 2002; Ounis-Skali y cols., 2006*). Se hipotetiza que el CL maduro funcionalmente podría ser una fuente primordial de REN, sugiriendo la existencia de una relación directa entre la P4 y el incremento de la REN durante este periodo (*Michelakis y cols., 1974*). En esta situación, efecto natriurético ejercido por la P4 quedaría compensado vía SRA por el aumento de secreción de REN y ALD. En la yegua PRE las correlaciones halladas entre la P4 y REN ($r=0,22$) y P4 y ALD ($r=0,66$) tal vez puedan sugerir que el incremento de ALD no es totalmente dependiente de la REN ni de la actividad del SRA sobre la corteza adrenal durante el diestro, a pesar de la participación de la P4 en la síntesis de ALD.

No obstante, se ha sugerido que la P4 no es el único esteroide implicado en la síntesis de REN durante el periodo luteal. De hecho, en la mujer el incremento simultáneo de E2 y P4 hacia mitad de este periodo parece relacionarse más estrechamente con la secreción endógena de PROREN y REN (*Sealey y cols., 1986*). En opinión de los autores, las bajas correlaciones encontradas entre E2 y REN ($r=0,13$) y E2 y ALD ($r=-0,35$) sugieren que los cambios de actividad del SRAA durante el periodo luteal en la yegua PRE están mediados por P4, debido a la escasa participación de los estrógenos en la síntesis de REN. Al igual que apuntan algunas investigaciones realizadas en la mujer (*Skinner y cols., 1969; Sundsfjord y Aakvaag, 1972; Katz y cols., 1975*), podría excluirse a los estrógenos como factor determinante del incremento cíclico de REN vía AOPEN, a pesar de la participación de los estrógenos en la secreción de REN durante el periodo luteal.

5.2.1.1.2.-ANGIOTENSINA II

Las concentraciones de ANG-II también sufrieron profundas modificaciones a lo largo del periodo del ciclo estral considerado en la yegua PRE. Según mostró el análisis estadístico, tras un descenso significativo durante el periodo preovulatorio, los niveles de ANG-II incrementaron significativamente el día de la ovulación. Posteriormente, disminuyeron progresiva y significativamente hasta alcanzar valores mínimos hacia el 5º día post-ovulación. Los resultados medios obtenidos en la yegua PRE fueron similares a los mostrados en pones y yeguas durante el segundo periodo de gestación (*Forhead y*

cols., 2000) y en momentos cercanos al parto (*Broughton Pipkin y cols., 1982*). Sin embargo, en yeguas gestantes de la misma raza, *Satué y Domingo (2011)* y *Satué y cols. (2011)* obtuvieron un valor medio de los datos 4,87 veces superior al de las yeguas de este estudio. En opinión de los autores, las diferencias entre resultados confirman que este parámetro al igual que la REN está condicionado fuertemente por la gestación. Estos resultados corroboran los descritos previamente en la mujer y la oveja, ya que la gestación duplica (*Dandrea y cols., 2002*) e incluso triplica (*van Dijk y cols., 2001*) las concentraciones de ANG-II respecto a los estados de ingravidez (*Alhenc-Gelas y cols., 1986; Alwan y cols., 2005*).

En la mujer (*Sundsford y Aakvaag, 1973; Weir y cols., 1976; Sealey y cols., 1987*) y en animales de experimentación (*De Vito y cols., 1989*) este incremento ovulatorio de ANG-II se produce de forma simultánea a la elevación de PROREN, AOGEN y REN. No obstante, en la yegua PRE esta relación no es tan estrecha, ya que las correlaciones entre REN y ANG-II fueron bajas y carentes de significación durante la fase folicular. En opinión de los autores, aunque la REN participa en la secreción de ANG-II, su contribución no es suficientemente cuantitativa para desencadenar la activación del SRAA durante la fase folicular. Habría que considerar otros factores no dependientes de la REN en las modificaciones circulantes de la REN durante la fase folicular.

Asimismo, los resultados obtenidos en la yegua PRE contrastan con los mostrados en la mujer, ya que en esta última especie las concentraciones de ANG-II duplican sus cifras durante la fase luteal, con respecto a la fase folicular del ciclo estral (*Sundsford y Aakvaag, 1970; Robertson y cols., 1971; Magness, 1993; Sealey y cols., 1994; Chapman y cols., 1997; Miller y cols., 1999; Spaanderman y cols., 2000; Chidambaram y cols., 2002; Ounis-Skali y cols., 2006; Szmilowicz y cols., 2006*). De hecho, en la yegua PRE la ANG-II decrece significativamente simultáneamente a la elevación de la REN a inicios del diestro, estableciéndose un cierto grado de disociación entre ambos parámetros. Estas evidencias nos llevan a especular si la génesis de ANG-II es independiente de la REN, o bien podrían existir algunos efectos depresores hormonales sobre este péptido durante el periodo diestral.

5.2.1.1.3.-ALDOSTERONA

La dinámica experimentada por la ALD a lo largo del periodo de estudio siguió un patrón de evolución similar al mostrado por la REN, caracterizado por dos picos máximos de secreción, si bien, el segundo fue significativamente superior al primero. Ambos picos definen específicamente el periodo ovulatorio y el 5º día post-ovulación.

Aunque la documentación científica referente a la dinámica de la ALD durante la fase folicular aporta evidencias contradictorias en la mujer, podrían estar relacionadas parcialmente, con los resultados obtenidos en las yeguas PRE de este estudio. Así, algunas investigaciones han revelado que el pico que caracteriza a la ALD durante el periodo ovulatorio en la mujer es de tipo transitorio (*Skinner y cols., 1969; Sundsfjord y Aakvaag, 1973*) o incluso no manifiesto durante la fase folicular (*Katz y Romfh, 1972*). Sin embargo, otros estudios relacionan el pico ovulatorio de ALD con la síntesis de AOPEN vía estrogénica (*Katz y Kappas, 1967*), la ACTH (*Kem y cols., 1975*), cambios hemodinámicos, alteraciones de la actividad simpática local y modificaciones en las concentraciones de Na a nivel de la mácula densa (*Yang y cols., 2000; Sealey y Laragh, 2011*). Aunque se desconoce en la yegua si esos mismos factores pueden ejercer algún tipo de influencia, el incremento simultáneo de REN y ANG-II sugiere que la liberación de ALD representa la actividad marcada por el SRA hacia el momento de la ovulación.

El incremento creciente de ALD durante el periodo luteal en la yegua PRE confirma parcialmente los resultados de investigaciones precedentes realizadas en la mujer (*Sealey y cols., 1985; 1987; Chapman y cols., 1997; Spaanderman y cols., 2000; Chidambaram y cols., 2002; Ounis-Skali y cols., 2006; Szmuiłowicz y cols., 2006*). Además, la relación que se establece entre la REN y ALD es lineal y direccional hacia la mitad del periodo luteal (*Katz y Romfh, 1972; Sundsfjord y Aakvaag, 1972; Michelakis y cols., 1975*), duplicando, triplicando o incluso cuadruplicando los niveles en relación a la fase folicular del ciclo (*Katz y Romfh, 1972; Sundsfjord y Aakvaag, 1973*), sin modificaciones en la ANG-II. La disociación mostrada por la ALD y la ANG-II en la yegua PRE podría sugerir que la síntesis de ALD se produce por otra vía distinta o no dependiente de la actividad del SRA durante el diestro, a pesar de la elevación de la REN, como ha sido mostrado en la mujer (*Szmuiłowicz y cols., 2006*). No obstante, el efecto natriurético inducido por la P4 durante este periodo podría estimular la liberación de REN y ALD de forma compensatoria (*Landau y Lugibihl, 1961; Brown y cols., 1964; Sundsfjord, 1971*), como se ha sugerido previamente en la yegua PRE.

Finalmente, los resultados medios en la yegua PRE de este estudio fueron 1,48 veces inferiores a los de yeguas gestantes de la misma raza (*Domingo, 2008; Satué y Domingo, 2011; Satué y cols., 2011*), confirmando al mismo tiempo las evidencias experimentales puestas de manifiesto en la mujer (*Bentley-Lewis y cols., 2005*), la perra (*Robb y cols., 1970*) y diversos animales de experimentación (*Brochu y cols., 1996; 1998*). Así, el incremento marcado de ALD, podría ser un factor decisivo para prevenir la masiva natriuresis que ocurriría debido al incremento de la filtración glomerular bajo la influencia de la P4 durante la gestación. En esta situación, la ALD se opone al efecto

natriurético de la P4 a nivel del túbulo distal, evitando la pérdida de Na y permitiendo la progresiva acumulación en el sector fetoplacentario y fluidos extracelulares maternos. Estos acontecimientos conllevan una mejor conservación renal de Na y agua para favorecer la expansión de la barrera fetoplacentaria y asegurar el aporte correcto de nutrientes al feto (*Jensen y cols., 2002*).

En resumen, el incremento de actividad del SRAA es una condición fisiológica del ciclo estral en la yegua PRE, si bien, la participación de este sistema es distinta según el momento del ciclo. El incremento progresivo de REN, ANG-II y ALD durante el periodo preovulatorio que culmina en el momento de la ovulación, sugiere que la fase folicular y el proceso ovulatorio son dependientes de la actividad del SRA. Sin embargo, la disociación mostrada entre las concentraciones de REN y ANG-II y ANG-II y ALD apunta que aunque la REN y ANG-II intervienen en la secreción de ALD, su contribución no parece ser cuantitativamente significativa. En consecuencia, deberían considerarse otros factores no dependientes del SRA en la síntesis de ALD durante el periodo luteal.

5.2.1.2.-CORTISOL

El CORT mostró un patrón de secreción bifásico similar a la REN y ALD a lo largo del periodo analizado, caracterizado por un primer pico el día de la ovulación, seguido de un segundo pico hormonal el 5º día post-ovulación, ambos significativos estadísticamente. Las concentraciones medias de CORT en la yegua PRE fueron superiores a las descritas previamente en la literatura para yeguas gestantes de esta misma raza (*Domingo, 2008; Satué y Domingo, 2011; Satué y cols., 2011*) y otras razas equinas como, Quarter Horse (*Harvey y cols., 1994*), Standardbred (*Hoffsis y cols., 1970; Flisinska-Bojanowska y cols., 1991, b; Gill y cols., 1994*), PSI (*Tsumagari y cols., 1991; Harvey y cols., 1994*) y Árabes (*Gill y cols., 1985; AboEl-Maaty, 2011*). El aumento de la cortisolemia en yeguas vacías respecto a las gestantes confirma a su vez los resultados de investigaciones precedentes realizadas en yeguas árabes (*Gill y cols., 1985*), PSI (*Nathanielsz y cols., 1975*) y otras razas equinas (*Cudd y cols., 1995*). Las diferencias en la respuesta adrenocortical entre yeguas vacías y gestantes podrían ser interpretadas en base a las variaciones en el metabolismo de dicho glucocorticoide. De hecho, respecto a las no gestantes, los niveles de CORT fetal inducen un mecanismo de retroalimentación negativo sobre los niveles maternos durante la gestación (*Fazio y cols., 2011*).

Respecto al mismo periodo del ciclo, los resultados en la yegua PRE confirman los obtenidos previamente en esta misma especie, mostrando una elevación preovulatoria de CORT cifrada en un valor de 82,00 ng/ml (*Briant y cols., 2000*), si bien, ligeramente

inferior al de este estudio (87,68 ng/ml). Estos niveles representan un incremento respecto al momento de la desviación, para un diámetro folicular de 25 mm y una concentración media de CORT de 63,00 ng/ml. No obstante, estos valores fueron ligeramente inferiores en la yegua PRE, a pesar de la similitud en el tamaño folicular en ambos estudios. Dicho incremento de la cortisolemia se ha relacionado primariamente con el efecto del estrés que acompaña la conducta de celo en la hembra debida a la influencia estrogénica o bien, con el dolor ovárico localizado, ejerciendo asimismo un efecto antiinflamatorio protector sobre el aparato genital en la hembra.

Las concentraciones de CORT en la yegua PRE fueron superiores a las obtenidas en pones (Asa y cols., 1983) y yeguas (Ginther y cols., 2007). No obstante, la dinámica experimentada por la cortisolemia en estos últimos estudios fue distinta a la de las yeguas de esta investigación. Mientras que Asa y cols. (1983) y Ginther y cols. (2007) mostraron descenso de CORT desde el comienzo de la desviación hasta el momento de la luteolisis, las concentraciones máximas se alcanzaron el día de la ovulación en la yegua PRE. Los resultados aportados por Asa y cols. (1983) podrían corroborar las evidencias experimentales sobre los efectos de los glucocorticoides sintéticos en yeguas. De hecho, el uso de este tipo de fármacos reduce el comportamiento estral y las concentraciones de LH, induciendo alteraciones en la ovulación. Los bajos niveles de CORT podrían favorecer el establecimiento del desarrollo folicular y la ovulación con normalidad (Ginther y cols., 2007). No obstante, la elevación de la cortisolemia en la yegua PRE, podría indicar algún grado de participación de este glucocorticoide en el desarrollo folicular.

Por otro lado, Noden y cols. (1975) y Asa y cols. (1983) el patrón de CORT se correlaciona negativamente con el E2 y con el diámetro folicular, y positivamente con la P4. Esta relación negativa entre el CORT, el grado de crecimiento folicular y las concentraciones de E2 a diferencia del estudio de Briant y cols. (2000) sugiere una posible influencia inhibitoria del CORT sobre el crecimiento folicular. Esta relación podría apuntar que la síntesis de E2 endógeno no es un factor estimulante de la liberación adrenal de este glucocorticoide (Hedberg y cols., 2007). Sin embargo, en la yegua PRE se han hallado correlaciones opuestas a las anteriores, es decir positivas entre el CORT, diámetro folicular y E2, y negativa con la P4. En opinión de los autores, la dinámica de crecimiento folicular es dependiente de las concentraciones de CORT y E2. A diferencia de los estudios anteriores, estas interrelaciones podrían sugerir que el E2 secretado por parte del folículo prevoulatorio, podría ejercer un efecto estimulante sobre la síntesis adrenal de dicho glucocorticoide durante el periodo ovulario.

A la hora de interpretar estos resultados es importante hacer referencia a los estudios realizados en la mujer (Tica y cols., 2008; Wolfram y cols., 2011) y en animales de experimentación (Atkinson y Waddell, 1997) sobre la cortisolemia durante el periodo

ovulatorio. En ambas especies se ha evidenciado un pico de CORT, si bien, más temprano en la rata que en la mujer, simultáneamente a la elevación de los niveles de E2. De hecho, la ovariectomía conlleva al descenso brusco de CORT, que posteriormente puede ser compensado tras la administración exógena de E2 en ratas y ratonas (Seale y cols., 2004). Se conoce que los estrógenos participan en la síntesis de CORT vía efecto estimulador directo sobre la proteína captadora de este glucocorticoide (Qureshi y cols., 2007). En novillas, este incremento se relaciona con el aumento de actividad de la enzima 11-HSD, encargada de la conversión de cortisona a cortisol (Lee y cols., 2007). Asimismo, se ha sugerido que esta dinámica se asocia con la exacerbación de los procesos inflamatorios que acompañan al desarrollo de las múltiples oleadas foliculares durante el estro. Estos mismos acontecimientos podrían haber condicionado el pico ovulatorio de CORT en la yegua PRE, ya que los glucocorticoides juegan un papel modulador en los procesos inflamatorios (King y Crischley, 2010). No obstante, esta respuesta deriva de la movilización de las reservas energéticas durante el ciclo reproductivo, en primates (Strier y cols., 2003).

Por el contrario, algunas investigaciones difieren considerablemente a las anteriores. Así, en la mujer (McCormick y Teillon, 2001; Nepomnaschy y cols., 2011), vaca (Dieleman y cols., 1986; Yoshida y Nakao, 2005), perra (Benetti y cols., 2004), elefante hembra (Brown y cols., 2004) y primates (Leshner y cols., 1978), no se han mostrado variaciones substanciales de la cortisolemia a lo largo del ciclo estral. La falta de consistencia entre resultados de las diversas investigaciones probablemente esté relacionada con la amplia variabilidad de métodos, protocolos de estudio, tamaños muestrales, influencia de los ritmos circadianos, manejo de los animales, nutrición, etc.

5.2.1.3.-DIÁMETRO FOLICULAR

El folículo dominante en la yegua PRE partió inicialmente de un diámetro medio de $24,73 \pm 2,20$ mm, 5 días antes de la ovulación. Este dato contrasta con los aportados previamente en otras razas equinas por Pierson y Ginther (1985) y Benallou y Meliani (2011), con tamaños foliculares superiores, de 29,4 mm y 32,63 mm, respectivamente.

Respecto a las medidas ultrasonográficas diarias, el grado de crecimiento folicular en la yegua PRE mostró un valor medio de 2,47 mm/día, similar al obtenido en yeguas árabes (Ivkov y cols., 1999) y yeguas Czech Warmblood (Dolezel y cols., 2012). La escasa variabilidad de los resultados en base a las mediciones diarias refleja el patrón uniforme de crecimiento folicular en la yegua PRE, confirmando la linealidad ($R^2=99,5\%$) determinada por Pierson y Ginther (1985), desde el día -5 hasta el día de la ovulación.

No obstante, se han descrito cifras ligeramente superiores de 5 mm/día (*Neely y cols., 1989*) e inferiores, que oscilan entre 1,4 mm/día (*Hohenhaus y Bostedt, 1992*), 1,67 mm/día (*Benallou y Meliani, 2011*) en yeguas de diversas razas. Esta disparidad en las mediciones ultrasonográficas podría estar asociada entre otros factores, con la precisión de los análisis estadísticos así como con el número de animales considerados en cada estudio. A pesar de ello, *Bergfelt y Ginther (1996)* mostraron gran similitud en el grado de crecimiento folicular entre yeguas Quarter Horse y ponis.

Según se constata en la bibliografía, el ritmo de crecimiento folicular se detiene 1 o 2 días antes de la ovulación, como se ha mostrado en yeguas miniatura y poneis (*Gastal et al., 2006, a*) y en otras razas equinas (*Palmer y Driancourt, 1980; Koskinen y cols., 1989; Gastal y cols., 2006, b*). En la yegua PRE el folículo alcanzó un tamaño de $40,23 \pm 1,37$ mm el día previo a la ovulación. Este resultado fue similar al descrito previamente en poneis (40 mm; *Ginther y cols., 2008*) y yeguas Czech Warmblood (35-45 mm; *Dolezel y cols., 2012*), ligeramente superior al obtenido en yeguas PSI ($39,95 \pm 4,84$ mm; *Davies Morel y cols., 2010*) y Miniatura ($37,3 \pm 0,5$ mm; *Gastal y cols., 2008*) e inferior al definido en yeguas PSI, Standardbred, Irish Draught y Warmblood (45,2 mm; *Pierson y Ginther, 1985; 44,2* mm; *Cuervo-Arango y Newcombe, 2008*), árabes (43,16 mm; *Benallou y Meliani, 2011*) y otras razas equinas (*Palmer y Driancourt, 1980; Ginther, 2000*). No obstante, algunas investigaciones han detallado medidas foliculares más exactas, de 41 mm de diámetro vertical y 47,5 mm, horizontal (*Lindeberg y cols., 1992*) e incluso ligeramente superiores en relación al diámetro longitudinal (43 mm) (*Raun y Synnestvedt, 1997*). Estas mediciones reflejan que el folículo preovulatorio nunca es inferior a 35 mm, garantizando su próxima ovulación (*Ginther, 2000*). De hecho, la probabilidad de que un folículo de 38 a 42 mm de diámetro ovule en 1 o 2 días, es del 95% (*Ginther, 1990; Gastal y cols., 2009*).

La bibliografía describe ampliamente las diferencias en el tamaño del folículo preovulatorio en relación a la raza, alcanzándose tamaños foliculares superiores en yeguas de tiro del tipo Clydesdale, Shire, Irish Draught y Welsh Cob respecto a poneis, PSI y Standardbred (*Newcombe*, datos no publicados). Asimismo, el diámetro preovulatorio máximo es 3 mm superior en yeguas de silla Francés que en ponis Welsh (*Palmer, 1987*), 5 mm inferior y 10 mm superior en yeguas miniatura que en Clydesdale y poneis de mayor alzada (*Ginther, 1995*), y superior en yeguas Quarter Horse (43 mm) que en árabes (40 mm) (*Dimmick y cols., 1993; Bergfelt y Adams, 2007*).

Las yeguas de este estudio mostraron diferencias de 3,57 mm y 1,307 mm de tamaño respecto a los resultados aportados por *Vivo y cols. (1992)* y *Vinuesa y Vivo (1993)*, siendo los diámetros medios foliculares de 43,8 mm y 41,3 mm en yeguas de la misma raza y Árabes. No obstante, el rango de referencia de la totalidad de los folículos

preovulatorios considerados marca las mismas diferencias que los datos medios, siendo en la yegua PRE y árabe de 40-47 mm y 37-45 mm, respectivamente (*Vivo y cols., 1992; Vinuesa y Vivo, 1993*), respecto a los datos mostrados en las yeguas de este estudio. Estas diferencias podrían marcar un cierto carácter individual, ya que en virtud de las aportaciones de *Driancourt y Palmer (1984)* los diámetros foliculares máximos en yeguas de conformación y peso normales suelen ser de 45-60 mm, frente a los de yeguas con peso inferior a 350 kg o de poca alzada, de rango más estrecho (32-40 mm).

La amplia variabilidad de los resultados en relación a la raza hace que deban considerarse otros factores de variación, como el momento de la estación reproductiva o la región geográfica. En relación al periodo dentro de la estación reproductiva, se ha documentado que el rango de diámetros foliculares preovulatorios se incrementa entre los meses de abril a junio (*Ginther y Pierson, 1989*). Teniendo en cuenta este antecedente, el presente estudio comenzó a realizarse a mediados de febrero, por lo que cabría esperarse un menor tamaño folicular al inicio del desarrollo, en comparación con otros estudios realizados más tardíamente en la estación reproductiva. Con respecto a la región geográfica, *Newcombe (1994)* mostró folículos preovulatorios (3,1 mm) superiores en yeguas PSI en Australia que en Inglaterra. Los estudios de *Vivo y cols. (1992)* y *Vivo y Vinuesa (1993)* se realizaron en el Sur de España, concretamente en Jerez de la Frontera (Cádiz), por lo que no podemos excluir en principio la influencia del fotoperiodo, ya que la estación de cría se amplía en esta región respecto a la comunidad Valenciana, lugar en el que se realizó este estudio experimental. Por tanto, no deben obviarse otros factores dependientes de la región geográfica, como el fotoperiodo y las condiciones climatológicas de humedad, temperatura, etc. ya que también podrían haber condicionado parte de las discrepancias entre las investigaciones.

La edad es otro de los factores directamente relacionados con las modificaciones en los tamaños foliculares. De hecho, *Davies Morel y cols. (2010)* mostraron que la edad disminuye sensiblemente el tamaño del folículo preovulatorio. En la presente investigación aunque los animales presentaron un amplio rango de edad (5-15 años) similar al del estudio de *Dolezel y cols. (2012)*, fue significativamente superior al de otros estudios en los que consideraron yeguas adultas y jóvenes (*Vivo y cols., 1992; Vinuesa y Vivo, 1993; Cuervo-Arango y Newcombe, 2008; Gastal, 2011, b*), por lo que tampoco debe descartarse la influencia de la edad en las diferencias de los tamaños foliculares entre los estudios.

Según reveló el análisis de regresión, en la yegua PRE el diámetro folicular y las concentraciones de E2, REN y ALD exhibieron una relación significativa positiva, si bien, fue menos intensa con la ANG-II. Aunque la dinámica experimentada por el diámetro folicular y las concentraciones de E2 a lo largo del estro ha sido ampliamente

documentada en la yegua PRE y en otras razas equinas (*Ginther y cols., 2004, b; Medan y cols., 2004; Crowell-Davis, 2007; Amer y cols., 2008; Honnens y cols., 2011*), se desconoce la participación de los componentes del SRAA en los procesos relacionados con el desarrollo folicular y la ovulación en la yegua.

No podemos precisar si el crecimiento folicular determina el incremento de las concentraciones sistémicas de estas hormonas, o por el contrario, son estas hormonas las que inducen aumento de tamaño folicular en la yegua, ya que desconocemos la existencia de fuentes autocrinas o paracrinas locales relacionadas con la génesis de los componentes del SRAA. En otras especies animales, existen factores autocrinos y paracrinos involucrados en la regulación del desarrollo de los folículos antrales. De hecho, la ANG-II en vacas tiene implicaciones importantes sobre el control de la función ovárica, relacionándose directamente con la regulación de la desviación folicular (*Ferreira y cols., 2011, a, b*). Como se ha especificado en el apartado de revisión bibliográfica, la desviación folicular implica la reducción o cese del crecimiento de los folículos subordinados y la continuación del desarrollo del folículo dominante (*Ginther y cols., 2007*). En cerdas, se han encontrado receptores AT1 y AT2 de la ANG-II a nivel de las células de la granulosa en los folículos antrales (*Shuttleworth y cols., 2002*) y folículos primordiales primarios y secundarios, y PROREN y AOGEN a nivel de los folículos preantrales. Estas evidencias sugieren que la ANG-II está implicada en la regulación del crecimiento folicular en esta especie (*Pountain y cols., 2010*) y otras especies de animales de laboratorio (*Haulica y cols., 1988*).

No obstante, existen diferencias interespecíficas en relación a las funciones de los receptores de ANG-II. Mientras que el receptor AT2 participa en la atresia folicular vía apoptosis (*Kotani y cols., 1999*), el receptor AT1 se relaciona con el desarrollo de folículos sanos, en mujeres (*Portela y cols., 2008*), vacas (*Schauser y cols., 2001; Berisha y cols., 2002*) y animales de experimentación (*de Gooyer y cols., 2004*). De hecho, la expresión de receptores AT1 se incrementa en las células de la teca y granulosa de los folículos dominantes altamente estrogénicos frente a los folículos menos estrogenizados. Estas ideas originales se fundamentan en protocolos experimentales basados en la administración de antagonistas de la ANG-II. Este tipo fármacos inhibe el crecimiento del folículo dominante, decrece las concentraciones de E2 y desequilibra la expresión de los receptores en las células de la granulosa (*Ferreira y cols., 2011, a*).

Las señales inducidas por la ANG-II a nivel local en vacas (*Ferreira y cols., 2011*) y mujeres (*Gonçalves y cols., 2010; 2012*) se relacionan con el crecimiento folicular vía regulación de los genes involucrados en la proliferación y diferenciación de las células de la granulosa y la secreción de E2 bajo la influencia de las gonadotropinas. Por este motivo, la ANG-II aumenta en el líquido folicular en ratas (*Husain y cols., 1987*) o conejas

tratadas con HCG (*Yoshimura y cols., 1994*), con LH en vacuno (*Shimizu y cols., 2007*), y con gonadotropina menopaúsica humana (HMG) y HCG en mujeres (*Lightman y cols., 1987*). Así, en mujeres sometidas a estimulación ovárica con HMG la ANG-II se correlaciona positivamente con el E2 y el diámetro folicular (*Jarry y cols., 1988*).

Uno de los hallazgos más recientes relacionados con la participación de la SRA en el ciclo estral viene determinado por el aumento de ANG-II en el líquido folicular en el momento de la desviación. Este suceso coincide al mismo tiempo con el aumento de la expresión de ARNm para la síntesis de E2 (*Ferreira y cols., 2011, a, b*), haciéndose necesario en la oleada preovulatoria de LH inductora de la ovulación (*Portela y cols., 2011*). Las correlaciones encontradas entre el diámetro folicular y las concentraciones de E2, REN, ANG-II y ALD en la yegua PRE podrían sugerir la existencia de mecanismos de actuación similares durante el periodo preovulatorio. No obstante, el hecho de que la relación del diámetro folicular con la ANG-II sea más débil que con otros componentes del SRAA, podría indicar, a diferencia de lo que acontece en otras especies, que su papel no es cuantitativamente significativo en el desarrollo folicular o bien, la existencia de sustancias depresoras de este péptido durante este periodo. Se necesitarían futuros estudios de investigación para dilucidar la cadena de eventos fisiológicos paracrinos locales relacionados con la actividad del SRA en base al desarrollo folicular durante el estro en la yegua.

Por el contrario, la ANG-II regula la atresia folicular mediante apoptosis de las células de la granulosa en roedores (*Kotani y cols., 1999, de Gooyer y cols., 2004*). De hecho, la sobreexpresión de REN y ANG-II a nivel de los tejidos extrarrenales en ratas transgénicas, incluyendo las células ováricas, produce reducción del número y tamaño de folículos antrales (*de Gooyer et al. 2004*). Asimismo, en ovejas el diámetro folicular y las concentraciones de ANG-II se correlacionan negativamente (*Li y cols., 2004*). Finalmente, la PROREN se relaciona inversamente con los niveles de E2, favoreciendo la atresia folicular en vacas (*Schultze y cols., 1989, Mukhopadhyay y cols., 1991*). Estas evidencias sugieren que otros factores no dependientes del SRA podrían estar implicados en la regulación del desarrollo folicular en estas últimas especies.

5.2.1.4.-ESTRADIOL-17 β Y PROGESTERONA

Como se ha citado en el apartado correspondiente a revisión bibliográfica, las hormonas esteroideas son importantes reguladores de la fisiología reproductiva en la yegua. Concretamente, el E2 y la P4 intervienen promoviendo cambios comportamentales y estructurales en el aparato reproductor en la yegua durante el ciclo estral (*Ginther, 1992*). Tanto la cópula como la fertilización requieren la presencia de estrógenos,

hormona responsable del aumento de vascularización, hiperemia, congestión, edematización del tracto reproductivo, foliculogénesis y comportamiento de recepción al semental característico de la hembra en celo. La P4 desempeña un papel preponderante tras el establecimiento del CL durante el ciclo estral, si bien, su efecto más destacado se produce durante la preñez, relacionándose con la implantación y supervivencia del embrión a nivel uterino, favoreciendo del mismo modo, el desarrollo de la glándula mamaria (*Gerald y Albretch, 1995; Spencer y cols., 2004*).

5.2.1.4.1.-ESTRADIOL-17 β

Las concentraciones de E2 mostraron un patrón de evolución simultáneo al experimentado por el diámetro folicular desde el comienzo del estudio hasta el día previo a la ovulación. No obstante, dichos niveles estrogénicos permanecieron elevados hasta el día +1, momento en el que alcanzaron el pico máximo, aunque posteriormente decrecieron con medias superiores a las del inicio del estudio.

El patrón de evolución creciente mostrado por el diámetro folicular y las concentraciones de E2 durante el periodo de crecimiento folicular confirma los resultados de investigaciones precedentes realizadas en yeguas de la misma raza (*Illera y cols., 1993*), árabes (*Amer y cols., 2008*), Caspian (*Shirazi y cols., 2003*), Miniatura (*Gastal y cols., 2009*), ponis (*Gastal y cols., 1999; 2009*) y otras razas equinas (*Ginther y cols., 2005; Honnen y cols., 2011*). Este incremento dual tiene implicaciones importantes a nivel fisiológico, ya que proviene de la aromatización de andrógenos a estrógenos a nivel de las células de la granulosa del folículo preovulatorio. Se trata de un proceso bicelular, gobernado por las gonadotropinas FSH y LH. La LH, específicamente, regula la biosíntesis de andrógenos a partir del colesterol a nivel de las células tecaes, que posteriormente serán aromatizados a estrógenos bajo la acción de la FSH (*Ginther y cols., 2004, a; Gastal y cols., 2009*). Así, las concentraciones de E2 serán proporcionales al grado de desarrollo folicular y actividad ovárica durante el estro (*Ginther y cols., 2004, b; Medan y cols., 2004; Crowell-Davis, 2007; Amer y cols., 2008; Honnens y cols., 2011*). De ahí, que las correlaciones halladas en la mayoría de estudios, como PRE ($r=0,74$; *Illera y cols., 1993*, Caspian ($r=0,74$; *Shizari y cols., 2003*) incluida las yeguas de este estudio sean altamente significativas y positivas ($r=0,89$) entre ambos parámetros. Esta elevación de E2 hacia el momento de la ovulación implica la presencia de edema y ecotextura endometrial compatibles con la conducta de celo en la yegua (*Illera y cols., 1993; Gastal y cols., 2009*).

Las concentraciones preovulatorias de E2 en la yegua PRE fueron inferiores a las presentadas previamente en yeguas de la misma raza (*Illera y cols., 1993*) y árabes (*Amer y cols., 2008*), si bien, el diámetro folicular máximo alcanzado en este último estudio fue ligeramente inferior. Estas diferencias en principio, podrían deberse al número de folículos presentes en cada yegua en el momento de la toma de muestras, ya que en este estudio únicamente se consideraron yeguas con un único folículo antral, de gran tamaño. Entre otros factores, deberían considerarse la época del año en la que se realizaron los estudios así como el método de determinación hormonal.

Por el contrario, en yeguas de otras razas, *Ginther y cols. (2005)* y *Gastal y cols. (2008)* obtuvieron concentraciones inferiores a las de la yegua de este estudio, aunque el diámetro fue ligeramente superior. Dichos niveles máximos de E2 inducen la oleada preovulatoria de LH, necesaria para la maduración final del ovocito y el establecimiento del CL, así como las modificaciones del aparato reproductor y manifestaciones comportamentales típicas de celo, garantizando la recepción, transporte de espermatozoides y fertilización del ovocito (*Bergfelt, 2000; Crowell-Davis, 2007*).

Como se ha expresado previamente, las concentraciones de E2 continuaron elevándose hasta el día posterior a la ovulación en la yegua PRE. Este resultado no es sorprendente, ya que diversas investigaciones han mostrado que la duración de este pico de E2 puede ser incluso superior (24-48 horas post-ovulación), aunque declina posteriormente (*Pattison y cols., 1974; Noden y cols., 1975; Plaschka y cols., 1993; Shirazi y cols., 2003*). Este descenso de E2 induce la finalización del comportamiento de celo (*Ginther y cols., 2001; Yougquist y Threlfall, 2007; Donadeu y Pedersen, 2008; Gastal, 2009; Stabenfeldt y cols., 2010*), presentando gran variabilidad entre yeguas. Así, mientras que en algunos estudios el declive se produce en el momento de la ovulación (*Shirazi y cols., 2003; Amer y cols., 2008; Gastal y cols., 2009; Honnen y cols., 2011*), en la yegua PRE se alcanzaron niveles mínimos al 5º día post-ovulación. En opinión de los autores, las variaciones entre resultados podrían derivarse de las divergencias en el tamaño folicular, momento de la estación de cría, edad de la yegua así como el método empleado en las determinaciones hormonales.

Las correlaciones halladas entre E2 y REN y E2 y ALD durante el periodo preovulatorio fueron altamente significativas, marcando un notable grado de relación entre dichos parámetros, si bien, fue menos intensa con la ANG-II. Diversos experimentos científicos realizados en distintas especies, incluida la mujer, sugirieron que los estrógenos activan mecanismos tisulares o plasmáticos relacionados directamente con la sobreexpresión de AOPEN (*Sealey y cols., 1987; Gordon y cols., 1992; Sealey y cols., 1994; Kuroski de Bold, 1999; Sanada y cols., 2001; Oelkers, 2002; Komukai y cols., 2010*)

y REN (Sealey y cols., 1987; Rubattu y cols., 1991; Chen y cols., 1992; Brosnihan y cols., 1997; Kuroski de Bold, 1999; Sanada y cols., 2001; Oelkers, 2002; Taofeek y cols., 2004), aunque inhiben la actividad de la ECA y la ANG-II (Gallagher y cols., 1999; Keam y Wagstraff, 2002). En estas circunstancias, tanto el AOPEN, PROREN como la REN activa evolucionan simultáneamente hacia el momento de la ovulación.

El mecanismo por el cual los estrógenos participan en la síntesis de AOPEN se fundamenta en que la región del promotor del gen que codifica el AOPEN es sensible a este esteroide (Wheeler y cols., 1997). De hecho, la administración de estrógenos favorece la síntesis y liberación hepática de dicha proteína (Gordon y cols., 1992). Estas evidencias experimentales se han puesto de manifiesto en terapias de sustitución hormonal en mujeres menopáusicas (Jespersen y cols., 1983) y en tratamientos con anticonceptivos orales (Oelkers, 1996), especialmente en los fármacos más clásicos, con dosis elevadas de estrógenos. En la actualidad, los anticonceptivos modernos llevan dosis estrogénicas inferiores, por lo que aunque inducen incremento de AOPEN, no modifican substancialmente los niveles de ANG-II, disminuyendo el riesgo de hipertensión.

Esta aparente disociación entre la ARP, ANG-II y ALD en respuesta al AOPEN se ha atribuido a la reducción de la expresión del ARNm de la ECA (Gallagher y cols., 1999), descenso de la sensibilidad tisular a la ANG-II (Nickenig y cols., 1998; Krishnamurthi y cols., 1999), y disminución de la expresión de los receptores AT1 a nivel tisular, como ha sido observado en la mujer (Oelkers, 1996), en la perra (Taofeek y cols., 2004) y animales de experimentación (Krishnamurthi y cols., 1999). A nivel central, los estrógenos también suprimen la expresión del receptor AT1 hipofisario, reduciendo la síntesis de ACTH y la producción de ALD (Roesch y cols., 2000).

Entre otros factores relacionados con la disociación entre la REN y la ALD inducida por el AOPEN destaca el efecto feedback negativo ejercido por la ANG-II sobre la síntesis de REN (Brosnihan y cols., 1999; Oelkers, 1996; 2002; Seely y cols., 2004; Prime y cols., 2007; Schunkert y cols., 1997; Xu y cols., 2008) y modificaciones de los patrones de síntesis de péptidos derivados de la ANG a nivel tisular, como la ANG (1-7). Esta desviación de la síntesis de péptidos vía inhibición de la actividad de la ECA (Brosnihan y cols., 1999), frena la activación del SRA. De hecho, el tratamiento con E2 incrementa los efectos vasodilatadores (Brosnihan y cols., 1997; Miller y Ducklesm 2008; Komukai y cols., 2010), debido al aumento de la liberación de ANG (1-7) y NO a nivel endotelial (Chen y cols., 2007). La NO al mismo tiempo puede desequilibrar los receptores AT1 a nivel tisular, vascular y en las glándulas suprarrenales (Usui y cols., 1998), mitigando las acciones directas de la ANG-II. De forma contraria, la ovariectomía

reduce la expresión del ARNm de la REN renal en diversas especies (*Chen y cols., 1992; Gordon y cols., 1992; Schunkert y cols., 1997; Seely y cols., 2004*), aunque en algunas condiciones los niveles de ANG-II se mantienen (*Xu y cols., 2008*).

La estrecha relación mostrada entre los estrógenos, REN y ALD durante el periodo pre y ovulatorio en la yegua PRE podría sugerir que la activación del SRAA sería dependiente de estos esteroides. Sin embargo, se desconoce el efecto de la utilización de estrógenos sobre dichos componentes y el grado de actividad del SRAA. Sería interesante en un futuro determinar cómo influyen estos esteroides sobre la síntesis de AOPEN, REN y ALD, así como las implicaciones a nivel cardiovascular y reproductivo que podrían derivarse de su aplicación.

5.2.1.4.2.-PROGESTERONA

Las concentraciones de P4 mostraron un descenso inicial desde el comienzo del estudio hasta el día de la ovulación, seguido de una elevación progresiva y significativa hasta el 5º día post-ovulación.

En la yegua, los niveles de P4 inferiores a 1 ng/ml durante el periodo preovulatorio definen específicamente las modificaciones específicas del aparato reproductor y la conducta de celo relacionadas con la fase folicular en esta especie (*Ginther, 1992; Daels y Hughes, 1993; Kelley, 2009*), corroborando los resultados de estudios precedentes durante el mismo periodo (*Vivo y cols., 1986; McMeen, 2002; Nagy y cols., 2004; Bergfelt y Adams, 2007*)

Tras la ovulación, la dinámica creciente experimentada por la P4 se relaciona con la luteinización de las células de la granulosa tras el pico de LH inducido por la acción de los estrógenos (*McMeen, 2002; Nagy y cols., 2004; Bergfelt y Adams, 2007*). Este primer incremento de P4 en la yegua PRE tiene lugar a las 24 horas de la ovulación y confirma los resultados obtenidos en diversas investigaciones en esta especie (*Plotka y cols., 1972; Meineck y cols., 1987; Shirazi y cols., 2003; Nagy y cols., 2004*).

No obstante, con muestreos más frecuentes se ha mostrado que este aumento significativo se produce a la 10 o 12 horas post-ovulación, siendo altamente variable entre yeguas (6-60 horas) (*Plotka y cols., 1975; Pipkin y cols., 1987; Townson y cols., 1989; Koskinen y cols., 1990; Nagy y cols., 2004*). Dicha variabilidad podría estar relacionada con la capacidad secretora del CL o bien con la tasa de catabolismo hormonal de la P4. Esta última observación al mismo tiempo, podría explicar las mayores concentraciones plasmáticas de P4 en ponis que en yeguas durante los primeros 5 días del diestro (*Squires y cols., 1974; Townson y cols., 1989; Nagy y cols., 2004*). No obstante, se ha

sugerido que los principales factores que alteran los niveles de P4 en yeguas no gestantes se relacionan con el día del ciclo, estación, número de ovulaciones y el momento en el que se produce específicamente la segunda ovulación. De hecho, las yeguas con doble ovulación presentan concentraciones de P4 significativamente superiores a las de ovulación simple (Nagy y cols., 2004).

Los elevados niveles de P4 alcanzados en el 5º día post-ovulación en la yegua PRE serían indicativos de madurez funcional del CL (Nagy y cols., 2004; Bergfelt y Adams, 2007). No obstante, algunos estudios han sugerido que las células de la granulosa podrían luteinizarse de forma previa a la ovulación (Tucker y cols., 1991; Collins y cols., 1997). Esta luteinización anticipada induce síntesis prematura de P4, que progresivamente incrementa para alcanzar concentraciones de 4 a 22 ng/ml en el 5º día post-ovulación (Adams y Bosu, 1988). Dicha producción preovulatoria de P4 podría ser el origen del descenso plasmático de E2 al final del estro en algunas yeguas (Tucker y cols., 1991). Estos resultados contrastan con los obtenidos en las yeguas PRE de este estudio, ya que no se produjo descenso de E2 ni aumento de P4 a lo largo del periodo preovulatorio, a pesar de las diferencias producidas durante el diestro.

Este incremento de P4 durante el periodo luteal se ha relacionado con la síntesis de ALD, a pesar de la intervención de otros factores, como el Na, K o ACTH. No obstante, las correlaciones mostradas entre la P4 y ALD ($r=0,66$), ALD y Na ($r=-0,13$) y ALD y K ($r=-0,13$) podrían sugerir como se ha expresado previamente, que la P4 es el factor que mayoritariamente contribuye a la síntesis de ALD en la yegua PRE durante el diestro. La unión de la ALD al receptor mineralocorticoideo situado a nivel de las células de los túbulos colectores de la nefrona distal, permite la reabsorción de Na y retención de fluidos. Este receptor tiene la misma afinidad para la P4 y la ALD (Hurwitz y cols., 2004), de forma que cuando se une la P4, al tratarse de un inhibidor competitivo de la ALD, antagoniza sus efectos, induciendo un efecto natriurético transitorio, como ha sido puesto de manifiesto en humanos (Myles y Funder, 1996; Oelkers, 1996) y animales de experimentación (Wambach y Higgins, 1978). Este estado natriurético inicial inducido por la P4 provoca la activación compensatoria del SRA, y aumento de la síntesis de ALD (Chidambaram y cols., 2002; Hirshoren y cols., 2002; Ounis-Skali y cols., 2006). Estas evidencias se fundamentan en resultados aportados por estudios experimentales realizados en la mujer y en animales de experimentación. Así, la adición de P4 *in vitro* a células aisladas a partir de la zona glomerulosa favorece la síntesis de ALD, en roedores (Szmuiłowicz y cols., 2006). Asimismo, el tratamiento con P4 exógena durante largos periodos de tiempo también incrementa significativamente la ALD en la mujer (Stanchenfeld y Taylor, 2005), sin modificaciones en la ARP, ANG-II y EU de Na.

No obstante, la administración simultánea de P4 y estrógenos incrementa la ARP, ANG-II, ALD, con disminución de la EU de Na, en la mujer (*Stanchenfeld y Taylor, 2005; 2007; Stanchenfeld y cols., 2005*). Por tanto, ambas hormonas serían las responsables de la actividad del SRAA durante el periodo luteal en esta última especie. Esta evidencia contrasta con la mostrada en la yegua, ya que las correlaciones encontradas entre E2 y ALD durante la fase luteal sugieren que el incremento de actividad del SRAA está mediado por P4, con escasa participación de los estrógenos en la síntesis de REN.

Estos resultados confirman las evidencias previas precedentes que describieron que la P4 es la única hormona inductora de ALD vía SRA (*Orshal y Khalil, 2004*), ya que los estrógenos inhiben dicha respuesta (*Schunkert y cols., 1997; Seely y cols., 1999*). En la yegua PRE se desconoce si existen mecanismos adicionales que contribuyen al incremento de ALD, a pesar del efecto antiminerlocorticoideo de la P4 durante la fase luteal. Se necesitarían futuros estudios de investigación para definir más concretamente las modificaciones en la ALD mediada por la P4 u otros factores durante el periodo luteal en la yegua PRE.

Como resumen de este apartado, en base a los resultados obtenidos se puede concluir que el desarrollo folicular durante el periodo ovulatorio en la yegua PRE está relacionado íntimamente con los niveles de E2 y con la actuación de la REN y ALD. Sin embargo, aunque no se descarta la participación de la REN, ANG-II y otros factores, como el CORT y los electrolitos plasmáticos, la P4 es el factor que mayoritariamente contribuye a la síntesis de ALD y por tanto, a la actividad del SRAA durante el periodo luteal en la yegua PRE.

5.2.2.-EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PRE

5.2.2.1.-VALOR HEMATÓCRITO

Según confirmó el análisis estadístico el valor HTO mostró un incremento significativo hacia el día de la ovulación, en ausencia de variaciones pre y post-ovulatorias.

Esta dinámica en la yegua PRE contrasta con la descrita previamente en yeguas de la misma raza (*Plaschka y cols., 1993*). Aunque este último estudio mostró ausencia de modificaciones entre los días -4 y +4 del ciclo, el valor medio mínimo se alcanzó el día de la ovulación. En esta última investigación los valores medios diarios también fueron inferiores a los del presente estudio, aunque se llevó a cabo en un número reducido de animales. Esta discrepancia entre resultados podría relacionarse con el número de

animales utilizados en los estudios y la metodología empleada en el análisis laboratorial, aunque no deben obviarse factores como el momento estacional de las venipunciones, la presencia de los ritmos circadianos así como la dieta suministrada a los animales, entre otros.

En hembras de diversas especies, como la mujer (*Vellar, 1974; Dapper y Didia, 2002*), oveja (*Krajnicáková y cols., 1995*), vaca (*Soliman y Zaki, 1963*) y animales de experimentación (*Harewood y cols., 1996*) también se han descrito modificaciones hematológicas similares a la de la yegua PRE. La fase folicular en estas especies se caracteriza por incremento del valor HTO, más notable hacia el momento de la ovulación. Estas variaciones se han relacionado con las modificaciones morfológicas y funcionales del aparato reproductor así como la influencia de los estrógenos durante el estro. No obstante, en la yegua las bajas correlaciones encontradas entre el valor HTO y los niveles de E2 ($r=0,09$) descartan algún tipo de influencia hormonal estrogénica sobre la eritrocitemia, a pesar de la similitud en la evolución de ambos parámetros. Podría sugerirse la intervención de otros factores en las modificaciones de la eritrocitemia durante el periodo ovulatorio en la yegua PRE, como la influencia del estrés.

Aunque se desconoce si el momento del ciclo puede estar relacionado con el estrés, algunas investigaciones han determinado la influencia del entrenamiento sobre determinados parámetros fisiológicos indicadores de estrés en yeguas (*Górecka y cols., 2004, Hedberg y cols., 2005*). Según indicaron estos estudios, las yeguas son más receptivas al entrenamiento durante el diestro, ya que la frecuencia cardíaca aumenta durante el periodo pre y ovulatorio. Estas observaciones sugieren que en comparación con la fase folicular, el periodo luteal se caracteriza por menor presencia de estrés (*Górecka y cols., 2004, Hedberg y cols., 2005*). Si se extrapolan los resultados a las yeguas de este estudio, podría sugerirse que el estrés que caracteriza la conducta de celo en la yegua conduciría al incremento del valor HTO, de forma secundaria a la liberación de catecolaminas y posterior esplenotomía (*Persson, 1967; Schalm y Carlson, 1982; Nagata y cols., 1999; Thornton, 2000*).

Algunas investigaciones han relacionado la actividad del SRAA y la eritrocitosis que se produce en una gran variedad de condiciones clinicopatológicas (*Stephen y Lindop, 1998; Coulthard y Lamb, 2002*). De forma experimental, la eritropoyesis incrementa tras la administración de REN o ANG-II (*Mrug y cols., 1997; Freudenthaler y cols., 1999; Gossmann y cols., 2001*). No obstante, aunque algunos estudios *in vitro* (*Rodgers y cols., 2000*) e *in vivo* (*Kato y cols., 2005*) sugieren un papel directo de la ANG-II sobre la estimulación de la proliferación de progenitores eritroides de la médula ósea (BFU-E) vía receptores AT1, otras investigaciones describen efectos inhibitorios (*Brunet*

de la Grange y cols., 2002). Aunque la REN, ANG-II, ALD y el valor HTO mostraron una dinámica creciente a lo largo del periodo preovulatorio en la yegua PRE, el análisis estadístico no reveló alguna relación entre ellos. En base a estos resultados, se sugiere que la contribución de los componentes del SRAA a la dinámica eritrocitaria durante el periodo preovulatorio es escasa en la yegua PRE, por lo que no se descarta la intervención de otros factores no dependientes de REN, ANG-II o ALD.

A diferencia de lo que acontece en la yegua, un estudio realizado en la mujer mostró descenso de la concentración de HB durante el periodo ovulatorio. Dicha disminución de HB se ha relacionado primariamente con pérdidas de sangre durante la menstruación y depresión de la síntesis y respuesta medular a la EPO, en respuesta a los estrógenos (Hallberg, 1979; Javaid y cols., 2007). No obstante, este efecto presente durante la fase folicular, es antagonizado por la P4 al comienzo del periodo luteal.

Aunque algunas investigaciones realizadas en perras (Mshelia y cols., 2005), vacas (Ahmadi y cols., 2006) y yeguas de la misma raza (Satué y Calvo, 2010) no han revelado modificaciones en el valor HTO durante el ciclo estral, la mayoría de estudios realizados en yeguas han mostrado que el ciclo reproductivo altera substancialmente la dinámica eritrocitaria en la yegua. En yeguas gestantes de diversas razas como, PSI, Árabes, PRE de Estirpe Cartujana, Brasileñas y Bretonas, esta respuesta representa un incremento significativo del valor HTO durante el periodo gestacional (Berlink y cols., 2000; Satué, 2004; Galindo y cols., 2007; Satué y cols., 2010), respecto al de yeguas cíclicas fisiológicamente normales (Gill y Wanska, 1978; Lumsden y cols., 1980; Plotka y cols., 1988; Harvey y cols., 1994; Galindo y cols., 2007). Estas modificaciones en los componentes sanguíneos se han relacionado con los requerimientos metabólicos necesarios para el desarrollo fetal y la lactación durante el ciclo reproductivo (Harvey y cols., 1994; Fowden y cols., 2000; Satué y cols., 2010).

Un estudio realizado en yeguas PSI describió la aparición de una anemia de intensidad ligera durante el último periodo de gestación (Trum, 1951). Esta observación en la yegua coincide con los resultados de diversas investigaciones realizadas en la mujer (Bailit y cols., 2007), vaca (Steinhardt y cols., 1994), perra (Mshelia y cols., 2005), cerda (Zvorc y cols., 2006), cabra (Azab y Andel Maksoud, 1999), elefante hembra (Ratnassooriya y cols., 1993) y primates (Harewood y cols., 1996). La disminución de la eritrocitemia se ha asociado con el incremento del VP secundario a la retención de agua y Na a nivel renal, debido a la actuación de la REN y ALD bajo la acción de los estrógenos. La hipervolemia inducida por la gestación se hace necesaria para atender las demandas del útero grávido, proteger a la madre y al feto de los efectos perjudiciales de la

disminución del retorno venoso y evitar que la madre padezca los efectos adversos de la pérdida de sangre durante el parto (*McMullin y cols., 2003*).

5.2.3.-EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PRE

5.2.3.1.-CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ELECTROLITOS

5.2.3.1.1.-SODIO

Las concentraciones de electrolitos junto con el valor HTO fueron las variables que menos se modificaron a lo largo del ciclo estral en la yegua PRE, según reveló el análisis de variación. Así, la natremia mostró una disminución significativa el día previo respecto al día de la ovulación, en ausencia de modificaciones durante el periodo luteal.

En comparación con los resultados aportados en este estudio, en yeguas de raza árabe (*Ali y cols., 2010; Meliani y cols., 2011*) y PSI (*Lumsden y cols., 1980*) se han descrito niveles plasmáticos de Na ligeramente inferiores. Según el estudio de *Meliani y cols. (2011)*, las yeguas postparto presentan cifras de natremia significativamente inferiores a la de yeguas gestantes, infértiles y potras, estableciéndose un ratio Na/K de $40,4 \pm 7,3$ en yeguas no gestantes (*Lumsden y cols., 1980*) frente a $43,15 \pm 3,60$ en yeguas posparto (*Meliani y cols., 2011*), ambos superiores a los mostrados en la yegua PRE (Na/K=34,19). Aunque no podemos precisar exactamente, el origen de estas discrepancias podría depender de factores relacionados con las condiciones climáticas de humedad y temperatura, la región geográfica en la que se realizaron los estudios así como el momento estacional de las venipunciones. No obstante, se han descrito cifras superiores (*Plaschka y cols., 1996; Satué y Domingo, 2011*) e inferiores (*Harvey y cols., 2005*) en yeguas gestantes de esta y otras razas, respecto a las de las yeguas no gestantes de este estudio. En opinión de los autores, las diferencias en los niveles de electrolitos entre yeguas de diferentes categorías reproductivas podrían estar relacionadas con las necesidades específicas y con el patrón endocrinológico dominante dentro de cada fase, aunque presenta gran variabilidad interindividual.

Este patrón creciente experimentado por la natremia en la yegua es más reducido que en la mujer, evidenciándose desde el inicio hasta final de la fase folicular, coincidiendo con el momento de la ovulación (*Dadlani y cols., 1982; Mira y cols., 1984*). Dicha respuesta se ha relacionado con la síntesis y liberación de estrógenos, que experimenta un patrón bifásico sobre la EU y fecal de Na, favoreciendo la pérdida inicial, seguida de un periodo de retención más tardío, como se ha mostrado en la mujer (*Keller-Wood, 2000; Sims y cols., 2008*) y en la yegua (*Kinslow y cols., 1995; Collins y cols.,*

1997). Estos hechos fisiológicos también se han puesto de manifiesto en ovejas (*Krajnicáková y cols., 1993*), si bien, el celo en esta especie se relaciona más marcadamente con excreción de Na (*Michell, 1979; Keller-Wood, 2000*). Contrariamente a lo que ocurre en la mujer, este patrón se modifica tras la ovulación hacia la retención de Na en la oveja (*Michell, 1979; Krajnicáková y cols., 1994*). Estas evidencias confirman hechos fisiológicos como la retención de Na que tiene lugar durante la fase luteal, periodo directamente relacionado con la secreción de ALD (*Michelakis y cols., 1975; Janowsky y cols., 2002*) y otras hormonas, como la AVP. En referencia a estos acontecimientos, *Keller-Wood (2000)* documentaron que los esteroides gonadales estimulan la secreción de AVP, implicada también en la retención de fluidos. A diferencia de la mujer, en la vaca la natremia no se relaciona con la dinámica de la P4 (*Hugentobler y cols., 2010*).

La ausencia de modificaciones en la natremia durante el periodo luteal en la yegua PRE confirma los resultados de un estudio realizado en búfalas (*Arshad y cols., 2005*) y contrasta con las evidencias experimentales en la mujer. De hecho, la fase luteal en la mujer, según algunos estudios se caracteriza por descenso de las concentraciones plasmáticas de Na (*Dadlani y cols., 1982; Mira y cols., 1984; Lanje y cols., 2010*) relacionado con el aumento de ADH (*Forsling y cols., 1981*) así como con el efecto antagónico entre la P4 y ALD a nivel del receptor mineralocorticoideo (*Landau y Lugibihl, 1958*). Por tanto, las variaciones en los patrones de electrolitos están íntimamente relacionadas con la actuación de las hormonas ALD, P4 y ADH sobre la función renal, favoreciendo el mantenimiento del equilibrio de fluidos y electrolitos durante el ciclo. Estas teorías se apoyan en hechos fisiológicos basados en que la ingestión de alimentos (*Sims y cols., 2008*) y la ovariectomía en ovejas (*Michell y Noakes, 1985*) no modifican el patrón de excreción de Na. Las bajas correlaciones encontradas entre E2, P4 y Na en la yegua PRE no han podido explicar hechos fisiológicos relacionados con la elevación de la natremia y natriuresis que se ponen de manifiesto durante la fase folicular y luteínica del ciclo, de forma respectiva. En opinión de los autores, se necesitarían futuros estudios de investigación para evaluar la excreción de Na, la posible existencia de natriuresis y los mecanismos hormonales compensatorios del restablecimiento de la natremia durante el ciclo estral en la yegua.

5.2.3.1.2.-POTASIO

Las concentraciones de K fluctuaron significativamente durante el periodo preovulatorio, experimentando un pico significativo el día posterior a la ovulación. Los resultados medios de la calemia en la yegua PRE fueron superiores a los obtenidos en

yeguas no gestantes de raza árabe (*Ali y cols., 2010; Meliani y cols., 2011*) y PSI (*Lumsden y cols., 1980*) y yeguas gestantes de la misma raza (*Satué y Domingo, 2011*). No obstante, se han establecido cifras de K en diferentes categorías reproductivas, obteniéndose valores medios de 5,19 mmol/l en yeguas fértiles, 2,99 mmol/l en gestantes y 4,31 mmol/l en subfértiles (*Naheed, 2004; Meliani y cols., 2011*). En yeguas PSI, Quarter Horse, Saddlebred, Standardbred y Morgan *Harvey y cols. (2005)* describieron una reducción de la calemia durante las primeras fases de la gestación, coincidiendo con el periodo de lactación. Este declive se relacionó con la pérdida de K plasmático para la formación de la leche (*Peaker y cols., 1979; Rook y cols., 1997*). Estos resultados corroboran los descritos previamente por *Naheed (2004)*, ya que en las yeguas postparto la calemia disminuye frente a las gestantes, infértiles y potras. Al igual que sucede con la natremia, las diferencias en la calemia entre yeguas de diferentes categorías podrían relacionarse con las necesidades específicas en cada periodo, aunque se ha sugerido que patrón endocrinológico también podría inducir algunas de las modificaciones.

Los resultados en la yegua PRE confirman parcialmente los obtenidos en mujeres y ovejas. De hecho, en la mujer la fase luteal se caracteriza por incremento de K (*Dadlani y cols., 1982; Mira y cols., 1984; Lanje y cols., 2010*), aunque este último es variable pudiendo no manifestarse o disminuir (*Michell, 1979; Keller-Wood, 2000*). Sin embargo, la natremia y la calemia se incrementan considerablemente hacia el momento de la ovulación en mujeres (*Dadlani y cols., 1982; Mira y cols., 1984*) y ovejas (*Hawk y cols., 1961; Krajnicáková y cols., 1993*). Estas evidencias se fundamentan en hechos fisiológicos como la disminución de la EU de K que tiene lugar durante el celo en la mujer (*Michell, 1979; Keller-Wood, 2000*), si bien, esta idea no es defendida por todos los investigadores (*Reich, 1962*). En opinión de los autores, las diferencias en el patrón endocrinológico específico a nivel de especie, el momento estacional de la toma de muestras sanguíneas, podrían ser algunos de los factores determinantes de tales variaciones

5.2.3.1.3.-CLORO

Las concentraciones de Cl mostraron dos elevaciones a lo largo del periodo analizado, ambas significativas estadísticamente. El primero de ellos tuvo lugar el día de la ovulación, mientras que el segundo se produjo más tardíamente (día 3 post-ovulación), declinando posteriormente.

Las investigaciones que evalúan la evolución de la calemia durante el ciclo reproductor en la yegua son muy escasas y contradictorias. Así, los niveles medios de Cl

durante la fase luteal en la yegua PRE fueron similares a los descritos previamente en yeguas gestantes de la misma raza (*Plaschka y cols., 1996; Satué y Domingo, 2011*) y yeguas PSI, Quarter Horse, Saddlebred, Standardbred y Morgan (*Harvey y cols., 2005*). No obstante, mientras que *Plaschka y cols. (1996)* y *Satué y Domingo (2011)* no evidenciaron modificaciones en el periodo gestacional, *Harvey y cols. (2005)* revelaron un pico de cloremia antes del parto. Aunque estos últimos investigadores no encontraron una explicación razonable a estos hechos, tal vez la dinámica hormonal presente en la hembra durante este periodo podría estar relacionada con estas modificaciones. No obstante, aunque la cloremia se correlaciona estrechamente con las concentraciones de P4 durante el periodo luteal, en la mujer (*Michelakis y cols., 1975; Janowsky, y cols., 2002*), estos hechos no se han confirmado en la vaca (*Hugentobler y cols., 2010*) ni en las yeguas PRE de este estudio.

En vacas, se ha mostrado que los niveles intrafolículos y plasmáticos de Cl se correlacionan positivamente con el diámetro del folículo preovulatorio (*LeRoy y cols., 2004*), estableciéndose una asociación significativa positiva entre los niveles intraoviductales y plasmáticos de dicho electrolito (*Hugentobler y cols., 2007*). Estas interrelaciones podrían reflejar la influencia de los cambios metabólicos plasmáticos a nivel del líquido folicular, hechos fisiológicos que podrían estar íntimamente relacionados con la calidad del ovocito y de las células de la granulosa del folículo preovulatorio. Aunque los electrolitos Na y K no se correlacionan estrechamente con el diámetro folicular en la yegua PRE, no se descarta algún tipo de participación de este electrolito en la dinámica de crecimiento folicular.

En resumen, aunque los parámetros hematológicos y bioquímicos se modifican sensiblemente durante el periodo periovulatorio en la yegua PRE, estas alteraciones podrían estar relacionadas con las necesidades específicas del periodo reproductivo, ya que ambos son independientes de la dinámica endocrinológica dominante y de la influencia de los niveles de REN, ANG-II y ALD durante el ciclo estral. En opinión de los autores, se necesitarían futuras investigaciones para evaluar los mecanismos hormonales compensatorios del restablecimiento de la natremia, calemia y cloremia en la yegua PRE durante el ciclo estral.

6.-CONCLUSIONES

PRIMERA. En la yegua PRE, el incremento de actividad del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona es una condición fisiológica del ciclo estral, aunque la participación es distinta según el perfil endocrinológico de cada fase.

SEGUNDA. La fase folicular y más concretamente el periodo ovulatorio en la yegua PRE se caracteriza por incremento progresivo del diámetro folicular y las concentraciones de estradiol-17 β , renina, angiotensina II y aldosterona, sugiriendo el efecto estimulador de los estrógenos sobre los componentes del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona y estos a su vez, en el desarrollo folicular.

TERCERA. Las interrelaciones positivas exhibidas entre el diámetro folicular, estradiol-17 β y cortisol durante el periodo ovulatorio en la yegua PRE, a diferencia de lo que acontece en otras investigaciones realizadas esta misma especie, podrían sugerir la posible influencia estimuladora del cortisol sobre la dinámica de desarrollo folicular, y que la síntesis endógena de estradiol podría favorecer la liberación adrenal de cortisol.

CUARTA. Aunque las concentraciones de renina y cortisol exhiben un cierto grado de relación, no revelan una implicación directa de la cortisolemia sobre el Sistema Renina Angiotensina durante la fase folicular.

QUINTA. La inexistencia de relación entre el valor hematocrito, estradiol-17 β , renina, angiotensina II y aldosterona descartan algún tipo de influencia de los estrógenos y de los componentes del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona sobre la dinámica eritrocitaria durante el periodo ovulatorio en la yegua PRE.

SEXTA. La disociación manifestada entre la renina y angiotensina II y angiotensina II y aldosterona apunta por un lado, que la génesis de angiotensina II podría ser no dependiente de renina o la existencia de efectos depresores hormonales sobre este péptido, y por otro lado, que aunque la angiotensina II interviene en la secreción de

aldosterona, su contribución no es cuantitativamente significativa durante el periodo luteal en la yegua PRE.

SÉPTIMA. La estrecha relación exhibida entre las concentraciones de progesterona y aldosterona unida a la inexistencia de relación entre el estradiol-17 β y renina, y estradiol-17 β y aldosterona, sugieren que a diferencia de la mujer, la progesterona está implicada directamente en la secreción de aldosterona, excluyendo a los estrógenos de la activación del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona durante el periodo luteal en la yegua PRE.

OCTAVA. La ausencia de relación entre las concentraciones de electrolitos, sodio, potasio, cloro, y esteroides ováricos, estradiol-17 β y progesterona, podría sugerir que el incremento de natremia y natriuresis evidentes durante la fase folicular y luteínica relacionadas con la dinámica endocrinológica en otras especies, no se manifiestan en la yegua PRE durante el ciclo estral.

NOVENA. Los datos hematológicos, bioquímicos y hormonales medios en la yegua PRE manifiestan un carácter homogéneo en relación a los resultados aportados en animales de esta y otras razas equinas durante el mismo estadio del ciclo reproductivo.

7.-RESUMEN

SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA DURANTE EL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA PURA RAZA ESPAÑOLA: INTERRELACIONES CON OTRAS HORMONAS Y CON EL ESTADO HIDROELECTROLÍTICO

En hembras de diversas especies los componentes del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona están implicados en funciones reproductivas que tienen lugar específicamente durante el ciclo estral, que abarcan foliculogénesis, maduración ovocitaria, ovulación, desarrollo del cuerpo lúteo y esteroidogénesis. Sin embargo, hasta la actualidad estos mecanismos permanecen desconocidos en la yegua. Por este motivo, los objetivos planteados en la presente investigación han sido los siguientes: 1) Establecer valores hematológicos, bioquímicos y hormonales de referencia en yeguas PRE cíclicas fisiológicamente normales; 2) Analizar el efecto del ciclo estral sobre el perfil hemático, bioquímico y hormonal en la yegua y 3) Valorar la implicación del estradiol-17 β , progesterona, cortisol, valor hematocrito, sodio, potasio y cloro sobre los componentes del SRAA durante el ciclo estral en la yegua PRE.

Se ha estudiado un total de 25 yeguas PRE con edades comprendidas entre 5 y 15 años, a lo largo del periodo del ciclo estral comprendido entre los días -5 y día +5, considerando el día 0, el día de la ovulación. Se obtuvieron diariamente muestras de sangre venosa matinales a lo largo del periodo del ciclo considerado. De la extracción realizada a cada yegua, se separaron dos fracciones, almacenándose en cantidades similares en tubos con heparina-litio y tubos de vidrio con activadores de la coagulación, para la extracción de plasma y suero, de forma respectiva. Previamente a la centrifugación de la sangre anticoagulada en heparina-litio, se procedió a la realización del microhematócrito. En plasma se analizaron las concentraciones de electrolitos, sodio, potasio y cloro utilizando el analizador con electrodos selectivos, respectivamente. Las concentraciones de renina, angiotensina, aldosterona, cortisol, estradiol-17 β , y progesterona se analizaron en suero empleando técnicas inmunoenzimáticas de competición.

La fase folicular se caracteriza por incremento progresivo del diámetro folicular y las concentraciones de estradiol-17 β , renina, angiotensina II, aldosterona, cortisol y hematocrito, sugiriendo la implicación directa de dichos parámetros en el desarrollo folicular y la ovulación. La relación positiva y significativa que experimenta la progesterona y aldosterona, unida a la disociación mostrada entre la renina y

angiotensina II, y angiotensina II y aldosterona podrían indicar que la génesis de angiotensina II no es dependiente de renina o bien, que podrían existir algunos efectos depresores de este péptido durante el periodo luteal. Asimismo, aunque la angiotensina II interviene en la secreción de aldosterona, su contribución no parece ser cuantitativamente significativa, por lo que habría que considerar otros factores no dependientes del Sistema Renina Angiotensina en la yegua PRE durante el diestro.

En conclusión, el estado fisiológico del ciclo estral modifica significativamente los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en la yegua PRE. El ciclo estral se caracteriza por una marcada actividad del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona, aunque los componentes presentan actuaciones diferentes dependientes del perfil endocrinológico en cada periodo del ciclo.

PALABRAS CLAVE. Bioquímica. Ciclo Estral. Hematología. Hormonas. Reproducción. Sistema Renina Angiotensina Aldosterona. Yegua.

8.-SUMMARY

RENIN ANGIOTENSIN ALDOSTERONE SYSTEM DURING THE ESTROUS CYCLE IN SPANISH PUREBRED MARES: INTERRELATIONSHIP WITH OTHER HORMONES AND WITH HYDROELECTROLYTIC STATUS

In females of various species the components of the renin-angiotensin-aldosterone (RAAS) are involved in reproductive functions that occur specifically during the estrous cycle, covering folliculogenesis, oocyte maturation, ovulation, luteal development and steroidogenesis. However, these mechanisms remain unknown in the mare. For this reason, the objectives of this research were as follows: 1) To establish hematologic, biochemical and hormonal reference values in cycling Spanish Purebred mares, 2) To analyze the effect of the estrous cycle on the hematological, biochemical and hormonal profile in the mare and 3) To evaluate the influence of estradiol-17 β , progesterone, cortisol, hematocrit, sodium, potassium and chloride on components of the RAAS during the estrous cycle in mares Spanish Purebred mares.

A total of 25 Spanish Purebred mares aged 5 to 15 years were analyzed during the estrous cycle between day -5 to day +5, considering day 0, the day of ovulation. Venous samples were obtained daily in the morning over mentioned period of cycle. Samples obtained of each mare were separated into two fractions in similar amounts in lithium heparin-lithium tubes, and tubes of glass clot for extraction of plasma and serum, respectively form. Prior to centrifugation of blood anticoagulated with heparin lithium, we proceeded to determine the microhematocrit. Plasma concentrations of electrolytes, sodium, potassium and chloride were analyzed using a the selective electrode analyzer. Serum renin, angiotensin, aldosterone, cortisol, estradiol-17 β , and progesterone were analyzed using competitive immunoenzymatic methods.

The follicular phase is characterized by progressive increases of follicular diameter, estradiol-17 β , renin, angiotensin II, aldosterone, cortisol and hematocrit, suggesting the direct involvement of these parameters in follicular development and ovulation. The positive and significant relation experienced by the progesterone and aldosterone, together with the dissociation between renin and angiotensin II and angiotensin II and aldosterone may indicate that the release of angiotensin II is not dependent on renin, or that there may be some inhibitor effects of this peptide during the luteal phase. In addition, although angiotensin II is involved in aldosterone secretion, their contribution does not

seem to be quantitatively significant, so we should consider other factors not dependent on the RAAS in the Spanish Purebred mare during diestrus.

In conclusion, the estrous cycle significantly modifies the hematological, biochemical and hormonal parameters in Spanish Purebred mares. The estrous cycle is characterized by a marked activity of the RAAS, although the components have different actions dependent on endocrine profile in each period of cycle.

KEY WORDS. Biochemistry. Estrous Cycle. Haematology. Hormones. Reproduction. Renin-angiotensin-aldosterone. Mare.

9. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

9.1.-ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.- Valores medios mensuales de la humedad relativa (%), de la temperatura ambiental (°C) y del porcentaje de horas de sol durante el periodo de estudio	67
TABLA 2.- Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE	73
TABLA 3.- Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 5 previo a la ovulación	74
TABLA 4.- Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 4 previo a la ovulación	74
TABLA 5.- Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 3 previo a la ovulación	75
TABLA 6.- Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 2 previo a la ovulación	75
TABLA 7.- Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 1 previo a la ovulación	76
TABLA 8.- Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día de la ovulación	76
TABLA 9.- Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 1 post-ovulación	77
TABLA 10.- Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 2 post-ovulación	77
TABLA 11.- Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 3 post-ovulación	78
TABLA 12.- Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 4 post-ovulación	78
TABLA 13.- Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE en el día 5 post-ovulación	79
TABLA 14. Diámetro folicular medio diario y tasa de crecimiento del folículo preovulatorio en las 25 yeguas PRE	80

TABLA 15.-Coeficientes de correlación entre los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE durante la fase folicular..... 159

TABLA 16.-Coeficientes de correlación entre los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE durante la fase luteínica..... 160

9.2. ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.-Valores medios \pm DS del diámetro folicular a lo largo del periodo preovulatorio en las 25 yeguas PRE 79

FIGURA 2.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de progesterona en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE..... 80

FIGURA 3.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de estradiol-17 β en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE..... 81

FIGURA 4.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de renina en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE..... 81

FIGURA 5.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de angiotensina II en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE..... 82

FIGURA 6.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de aldosterona en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE..... 82

FIGURA 7.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de cortisol en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE..... 83

FIGURA 8.-Valores medios \pm DS del valor hematócrito en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE 83

FIGURA 9.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de sodio en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE..... 84

FIGURA 10.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de potasio en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE..... 84

FIGURA 11.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de cloro en el periodo comprendido entre el día -5 y +5 del ciclo estral en las 25 yeguas PRE..... 85

10. ÍNDICE DE ABREVIATURAS

11-HSD tipo 1: enzima 11- β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1

ACTH: hormona corticotropa

ADH: hormona antidiurética

ALD: aldosterona

AMPC: adenilato ciclasa

ANG-II: angiotensina II

ANOVA: análisis de varianza

ANP: péptido atrial natriurético

AOGEN: angiotensinógeno

APR: actividad plasmática de la renina

ARN: ácido ribonucleico

ARNm: ARN mensajero

ASMT: N-acetilserotonina o-metiltransferasa

AVP: arginina vasopresina

BFU-E: unidad formadora de colonias eritroides

Cl: cloro

CL: cuerpo lúteo

CORT: cortisol

CRF: factor liberador de corticotropinas

CV: coeficiente de variación

DHEA: dehidroepiandrosterona

DS: desviación estándar

E2: estradiol-17 β

ECA: enzima de conversión de la angiotensina

EHH: eje hipotalámico hipofisario

EHHG: eje hipotalámico hipofisario gonadal

EIA: técnica inmunoenzimática de competición

EPO: eritropoyetina

EU: excreción urinaria

FIV: fecundación in vitro

FNT: factor de necrosis tumoral

FSH: hormona folículo estimulante

GnRH: factor liberador de gonadotropinas

HB: hemoglobina

HCG: gonadotropina coriónica humana
HCM: hemoglobina corpuscular media
HMG: gonadotropina menopáusica humana
HTO: hematócrito
IGF-I: factor de crecimiento insulínico tipo 1
IL-1: interleucina 1
K: potasio
LEC: líquido extracelular
LH: hormona luteinizante
Na: sodio
NADH: nicotinamida adenina dinucleótido
NO: óxido nítrico sintasa
P4: progesterona
PAI-1: factor inhibidor activador de plasminógeno 1
PAN: péptido atrial natriurético
PG: prostaglandina
PGE₂: prostaglandina E₂
PGF₂α: prostaglandina F₂α
PGI₂: prostaciclina
PPT: proteína plasmática total
PRE: pura raza española
PROREN: prorenina
PSI: Pura Sangre Inglés
REN: renina
RER: retículo endoplásmico rugoso
SNC: sistema nervioso central
SNS: sistema nervioso simpático
SRA: Sistema Renina Angiotensina
SRAA: Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
TFG: tasa de filtración glomerular
VCM: volumen corpuscular medio
VP: volumen plasmático

11. BIBLIOGRAFÍA

- ABOEL-MAATY, A.M. (2011). Stress and its effects on horses reproduction. *Vet. Sci. Dev.* 1(3): 54-57.
- ADAMS, G.; BOSU, T.K. (1988). Reproductive physiology of the nonpregnant mare. An overview and update. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.*, 4(2): 161-173.
- ADLER, G.K.; MOORE, T.J.; HOLLENBERG, N.K.; WILLIAMS, G.H. (1987). Changes in adrenal responsiveness and potassium balance with shifts in sodium intake. *Endocr. Res.* 13(4): 419-445.
- AHMADI, M.R.; NAZIFI, S.; GHASARI, H.R. (2006). Comparison of hormonal changes of estrous cycle with cytology of cervical mucosa and hematological parameters in dairy heifers. *Comp. Clin. Pathol.* 15(2): 94-97.
- ALEGRÍA, G.; LEYVA, V.; FRANCO, J. (2001). Niveles de progesterona sérica y fecal durante el ciclo estrual y la gestación temprana en yeguas. *Rev. Inv. Vet. Perú*, 12(1), <http://sisbib.unmsm.edu.pe>.
- ALEXANDER, S.L.; IRVINE, C.H. (1998). The effect of social stress on adrenal axis activity in horses: the importance of monitoring corticosteroid-binding globulin capacity. *J. Endocrinol.* 157(3): 425-432.
- ALEXANDER, S.L.; IRVINE, C.H.; LIVESEY, J.H.; DONALD, R.A. (1993). The acute effect of lowering plasma cortisol on the secretion of corticotrophin-releasing hormone, arginine vasopressin, and adrenocorticotropin as revealed by intensive sampling of pituitary venous blood in the normal horse. *Endocrinology*, 133(2): 860-866.
- ALEXANDER, S.L.; IRVINE, C.H.G. (1987). Secretion rates and short-term patterns of gonadotrophin-releasing hormone, FSH and LH throughout the periovulatory period in the mare. *J. Endocr.* 114: 351-362.
- ALEXANDER, S.L.; IRVINE, C.H.G. (1991). Control of onset of breeding season in the mare and its artificial regulation by progesterone treatment *J. Reprod. Fertii. Suppl.* 44: 307-318.
- ALEXANDER, S.L.; IRVINE, C.H.G. (1993). FSH and LH. En: *Equine Reproduction*. McKinnon, A.O.; Voss, J.L. (eds.). Lea & Febiger, Philadelphia, pp 45-56.
- ALHENC-GELAS, F.; TACHE, A.; SAINT-ANDRE, J.P., MILLIEZ, J.; SUREAU, C.; CORVOL, P.; MENARD, J. (1986). The renin-angiotensin system in pregnancy and parturition. Year Book Medical Publishers, Inc., Chicago, I.L., pp. 25-33.
- ALI F, LA LODHI, ZI QURESHI AND M YOUNIS, (2010). Serum macromineral levels in estrual, fertile, subfertile and pregnant mares kept under two different managemental conditions. *Pak. Vet. J.* 30: 87-90
- ALLARD, R.L.; CARLOS, A.D.; FALTIN, E.C. (1989). Canine hematological changes during gestation and lactation. *Comp. Anim. Pract. Hematol. Reprod.*, 19(3): 3-6.
- ALLEN, W. R. (1984). Hormonal control of early pregnancy in the mare. *Anim. Repr. Sci.* 7: 283-304.
- ALWAN, S.; POLIFKA, J.E.; FRIEDMAN, J.M. (2005). Angiotensin II receptor antagonist treatment during pregnancy. *Birth Defects Res. A. Clin. Mol. Teratol.* 73(2): 123-130.
- AMER H.A.; SHAWKI, G.; ISMAIL, R. (2008). Profile of steroid hormones during oestrus and early pregnancy in Arabian mares. *Slov. Vet. Res.* 45(1): 25-32.
- ANDERSSON, B.; AUGUSTINSSON, O.; BADEMO, E.; JUNKERGARD, J.; KVART, C.; NYMAN, G.; WIBERG, M. (1987). Systemic and centrally mediated angiotensin II effects in the horse. *Acta. Physiol. Scan.*, 129: 143-149.
- ARAKAWA, K.; NAKATANI, M.; NAKAMURA, M. (1967). Studies on human angiotensin. *Nature*, 214: 278-279.
- ARCHER, R.K.; JEFFCOTT, L.B. (1977). Comparative clinical haematology. Archer, R.K.; Jeffcott, L.B. (eds.). 1^a ed. Oxford, Blackwell Scientific, pp. 161-185.
- ARMSTRONG, D.G.; WEBB, R. (1997). Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Rev. Reprod.*, 2(3): 139-146.
- ARRUDA, R.P.; VISITIN, J.; FLEURY, J.; GARCIA, A.; MADUREIRA, E.; CELEGHINI, E.; NETO, J. (2001). Existem relações entre tamanho e morfoogénicidade do corpo lúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões equinos?. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 38: 233-239.
- ARSHAD, H.M.; ZIA-UR-RAHMAN, N.A.; SAMAD, H.A.; AKHTAR, N.; ALI, S. (2005). Studies on some biochemical constituents of ovarian follicular fluid and peripheral blood in buffaloes. *Pakistan Vet. J.* 25(4): 189-193.
- ART, T.; DESMECHT, D.; AMONY, H.; DELOGNE, O.; BUCHET, M.; LEROY, P.; LEKEUX, P. (1990). A field study of post-exercise values of blood biochemical constituents in jumping horses: relationships with score, individual and event. *J. Vet. Med. A.*, 37: 231-239.

- ASA, C.S., GOLDFOOT, D.A., GARCIA, M.C. AND GINTHER, O.J. (1980, a). Sexual behavior in ovariectomized and seasonally anovulatory pony mares (*Equus caballus*). Horm. Behav. 14(1): 46-54.
- ASA, C.S., GOLDFOOT, D.A., GARCIA, M.C. AND GINTHER, O.J. (1980, b). Dexamethasone suppression of sexual behavior in the ovariectomized mare. Horm. Behav. 14: 55-64.
- ASA, C.S.; GINTHER, O.J. (1982). Glucocorticoid suppression of oestrus, follicles, LH and ovulation in the mare. J. Reprod. Fert. Suppl. 32: 247-251.
- ASA, C.S.; ROBINSON, J.A.; GINTHER, O.J. (1983). Changes in plasma cortisol concentrations during the ovulatory cycle of the mare. J. Endocrinol. 99: 329-334.
- ATKINSON, H.C.; WADDELL, B.J. (1997). Circadian variation in basal plasma corticosterone and adrenocorticotropin in the rat: sexual dimorphism and changes across the estrous cycle. Endocrinology, 138(9): 3842-3848.
- ATLAS, S.A. (2007). The Renin-Angiotensin Aldosterone System: Pathophysiological role and pharmacologic inhibition. J. Manag. Care Pharm., 13 (8S-b): 9-20.
- AURICH, C. (2011). Reproductive cycles of horses. Anim. Reprod. Sci., 124 (3-4): 220-228.
- AYALA, I.; MARTOS, N.F.; SILVAN, G.; GUTIERREZ-PANIZO, C.; CLAVEL, J.G.; ILLERA, J.C. (2011). Cortisol, adrenocorticotrophic hormone, serotonin, adrenaline and noradrenaline serum concentration in relation to disease and stress in the horse. Res. Vet. Sci. (En prensa).
- AZAB, M.E.; ABDEL-MAKSOUND, H.A. (1999). Changes in some hematological and biochemical parameters during pre-partum and post-partum periods in female Baladi goats. Small Ruminant. Res. 34: 77-85.
- BAILIT, J.L.; DOTY, E.; TODIA, W. (2007). Repeated hematocrit measurement in low-risk pregnant women. J. Reprod. Med. 52(7): 619.
- BALL, B.A.; GRAVANCE, C.G.; WESSEL, M.T.; SABEUR, K. (2003). Activity of angiotensin converting enzyme (ACE) in reproductive tissues of the stallion and effects of angiotensin II on sperm motility. Theriogenology, 59(3-4): 901-914.
- BARRELET, A.; RICKETTS, S. (2002). Hematology and blood biochemistry in the horse: a guide to interpretation. In Pract. 24: 318-327.
- BASHIR, A.; RASEDEE, A. (2009). Plasma catecholamine, sweat electrolytes and physiological responses of exercised normal, partial, anhidrotic and hidrotic horses. Am. J. Anim. Vet. Sci., 4: 26-31.
- BAUCUS, K.L., E.L. SQUIRES, S.L. RALSTON, A.O. MCKINNON AND T.M. NETT. (1990, b). Effect of transportation on the estrous cycle and concentrations of hormones in mares. J. Anim. Sci. 68:419-426.
- BAUCUS, K.L., S.L. RALSTON, C.F. NOCKELS, A.O. MCKINNON AND E.L. SQUIRES. (1990, a). Effects of transportation on early embryonic death in mares. J. Anim. Sci. 68:345-351.
- BENALLOU, B.; MELIANI, S. (2011). Ultrasonic measurement of follicle's diameter and bacteriological examination during foal heat in Arabian mares. Middle-East J. Scient. Res. 8 (1): 46-51.
- BENETTI, A.H.; TONIOLLO, G.H.; DE OLIVEIRA, J.A. (2004). Progesterone, estradiol-17 β and cortisol serum concentrations during late proestrus, estrus and gestational diestrus in canine female dogs. Ciência Rural 34(2): 471-478.
- BENTLEY-LEWIS, R.; GRAVES, S.W.; SEELY, E.W. (2005). The rennin-aldosterone response to stimulation and suppression during normal pregnancy. Hypertens. Pregnancy, 24: 1-16.
- BERGER, M.; LANGHANS, J. (1967). Angiotensinase activity in pregnant and non pregnant women. Am. J. Obstet. Gynecol. 98: 215-228.
- BERGFELT, D. R.; BROGLIATTI, G.M.; ADAMS, G.P. (1998). Gamete recovery and follicular transfer (graft) using transvaginal ultrasonography in cattle. Theriogenology, 50(1): 15-25.
- BERGFELT, D.R. (2000). Estrous synchronization. En: Equine breeding management and artificial insemination. Samper, J.C. (ed.). Saunders Company, Philadelphia, pp. 165-177.
- BERGFELT, D.R.; ADAMS G.P. (2007). Ovulation and corpus luteum development. En: Current therapy in equine reproduction. Rudolph, P. (ed.). Saunders Company Publisher, St. Louis, Missouri, pp. 1-13.
- BERGFELT, D.R.; GASTAL, E.L.; GINTHER, O.J. (2001). Response of estradiol and inhibin to experimentally reduced luteinizing hormone during follicle deviation in mares. Biol. Reprod., 65(2): 426-432.

- BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. (1992). Embryo loss following GnRH-induced ovulation in anovulatory mares. Theriogenology, 38(1): 33-43.
- BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. (1996). Ovarian, uterine and embryo dynamics in horses versus ponies. J. Equine Vet. Sci., 16: 66-72.
- BERGHOLD, P.; MÖSTL, E.; AURICH, C. (2007). Effects of reproductive status and management on cortisol secretion and fertility of oestrous horse mares. Anim. Reprod. Sci. 102: 276-285.
- BERISHA, B.; SCHAMS, D.; MIYAMOTO, A. (2002). The expression of angiotensin and endothelin system members in bovine corpus luteum during estrous cycle and pregnancy. Endocrine, 19(3): 305-12.
- BERLINK, B.; CORREA, J.; EVANGELISTA, A.; PEIXOTO, R.; PENTEADO, C. (2000). Constituintes hematimétricos do sangue de éguas gestantes de raça árabe. Vet. Notícias, Uberlândia, 6(1): 51-55.
- BERRY, C.; CLARK, A.L. (2000). Catabolism in chronic heart failure. Eur. Heart J. 21: 521-532.
- BEST, P.J.; BERGER, P.B.; MILLER, V.M.; LERMAN, A. (1998). The effect of estrogen replacement therapy on plasma nitric oxide and endothelin-1 levels in postmenopausal women. Ann. Intern. Med. 128(4): 285-288.
- BILLET, S.; AGUILAR, F.; BAUDRY, C.; CLAUSER, R. (2008). Role of angiotensin II AT1 receptor activation in cardiovascular diseases. Kidney Int. 74(11): 1379-1384.
- BISSON, D.L.; DUNSTER, G.D.; O'HARE, J.P.; HAMPTON, D.; PENNEY, M.D. (1992). Renal sodium retention does not occur during the luteal phase of the menstrual cycle in normal women. B.J.O.G., 99(3): 247-252.
- BLAIR-WEST, J.; COGHAN, J.P.; DENTON, D.A. (1962). Evidence against an aldosterone feed-back mechanism within the adrenal gland. Acta Endocrinol. (Copenh) 41: 61-66.
- BOLLWEIN, H.; MAYER, R.; WEBER, F.; STOLLA, R. (2002). Luteal blood flow during the estrous cycle in mares. Theriogenology, 57(8): 2043-2051.
- BOUHNNIK, J.; FEHRENTZ, J.A.; GALEN, F.X.; SEYER, R.; EVIN, G.; CASTRO, B.; MENARD, J.; CORVOL, P. (1985). Immunologic identification of both plasma and human renal inactive renin as prorenin. J. Clin. Endocrinol. Metab., 60(2): 399-401.
- BRAGG WEVER, N.D.; PIERSON, R.A.; CARD, C.E. (2002). Relationship between estradiol 17- β and endometrial echotexture during natural and hormonally manipulated estrus in Mares. Proceedings A.A.E.P., pp. 41-47.
- BRIANT, C.; HERVÉ, V.; GUILLAUME, D. (2000). Cortisol, stress et reproduction chez la jument. Proceeding of 26ème Journée de la Recherche Equine, Les Haras Nationaux, Paris, pp. 101-110.
- BRILLA, C.G.; RUPP, H.; FUNCK, R.; MAISCH, B. (1995). The renin-angiotensin-aldosterone system and myocardial collagen matrix remodelling in congestive heart failure. Eur. Heart J., 16: 107-109.
- BROCHU, M.; GAUVIN, J.P.; ST. LOUIS, J. (1996). Increase of aldosterone secretion in adrenal cortex suspensions derived from pregnant rats. Pro. Soc. Exp. Biol. Med. 212: 147-152.
- BROCHU, M.; ROY-CLAVEL, E.; PICARD, S.; ST. LOUIS, J. (1998). In vivo regulation of enzymes controlling aldosterone synthesis in pregnant rats. J. Endocrinol., 24(3-4): 575-579.
- BROSNIHAN, K.B.; LI, P.; GANTEN, D.; FERRARIO, C.M. (1997). Estrogen protects transgenic hypertensive rats by shifting the vasoconstrictor-vasodilator balance of RAS. Am. J. Physiol. 273: 1908-1915.
- BROSNIHAN, K.B.; SENANAYAKE, P.S.; LI, P.; FERRARIO, C.M. (1999). Bidirectional actions of estrogen on the renin angiotensin system. Braz. J. Med. Biol. Res., 32: 373-381.
- BROUGHTON PIPKIN, F.; BAKER, P.; (1997). Angiotensin II has depressor effects in pregnant and nonpregnant women. Hypertension, 30: 1247-1252.
- BROUGHTON PIPKIN, F.; OUSEY, J.C.; WALLACE, C.P.; ROSSDALE, P.D. (1984). Studies on equine prematurity 4: Effect of salt and water loss on the renin-angiotensin-aldosterone system in the newborn foal. Equine Vet. J., 16(4): 292-297
- BROUGHTON PIPKIN, F.; ROSSDALE, P.D.; FRAUENFELDER, H. (1982). Changes in the renin-angiotensin system of the mare and the foal at partition. J. Reprod. Fertil. Suppl., 32: 555-561
- BROWN, J.J.; DAVIES, D.L.; DOAK, P.B.; LEVER, A.F.; ROBERTSON, J.I.S.; TREE, M. (1964). The presence of renin in human amniotic fluid. Lancet 2: 64.

- BROWN, J.L.; WALKER, S.L.; MOELLER, T. (2004). Comparative endocrinology of cycling and non-cycling Asian (*Elephas maximus*) and African (*Loxodonta africana*) elephants. Gen. Comp. Endocrinol. 136(3): 360-370.
- BROWN, M.A.; ZAMMIT, V.C.; MITAR, D.A.; WHITWORTH, J.A. (1992). Renin-aldosterone relationships in pregnancy-induced hypertension. Am. J. Hypertens. 5(1): 366-371.
- BROWN, R.D.; STROTT, C.A.; LIDDLE, G.W. (1972). Site of stimulation of aldosterone biosynthesis by angiotensin and potassium. J. Clin. Invest., 51(6): 1413-1418.
- BROWN, R.D.; THORÉN, P.; STEEGE, A.; MROWKA, R.; SÄLLSTRÖM, J.; SKOTT, O.; FREDHOLM, B.B.; PERSSON, A.E. (2006). Influence of the adenosine A1 receptor on blood pressure regulation and renin release. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 290(5): 1324-1329.
- BRUNET DE LA GRANGE, P.; IVANOVIC, Z.; LEPRIVEY-LORGEOT, V.; PRALORAN, V. (2002). Angiotensin II that reduces the colony forming ability of hematopoietic progenitors in serum free medium has an inverse effect in serum supplemented medium. Stem Cells, 20(3): 269-271.
- BRUNSWING-SPICKENHEIER, B.; MUKHOPADHYAY, A.K. (2003). Local regulatory factors in regulation of ovarian function: role of prorenin-renin-angiotensin-system. Indian J. Exp. Biol., 41(7): 669-681.
- BURRIS, T. (1999). Progestins. En: Encyclopedia of Reproduction. Knobil, E.; Neill, J.D. (eds.). Vol 4, New York: Academic Press, pp. 23-30.
- CAR, B.D. (2000). Erythropoiesis and erythrokinetics. En: Schalm's Veterinary Hematology. Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. (eds.). Lippincott Williams & Wilkins, pp. 105-108.
- CAREY, R.M.; SIRAGY, H.M. (2003). Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. Endocr. Rev 24(3): 261-271.
- CEBULJ-KADUNC, N.; BOZIC, M.; KOSEC, M.; CESTNIK, V. (2002). The influence of age and gender on haematological parameter in Lippizan horses. J. Vet. Med. A., 49(4): 217-221.
- CEBULJ-KADUNC, N.; KOSEC, M.; CESTNIK, V. (2003). Serum thyroid and steroid hormone levels in Lippizan horses. Slov. Vet. Res., 40(1): 9-16.
- CHANDLER, K.J.; DIXON, R.M. (2002). Urinary cortisol: creatinine ratios in healthy horses and horses with hyperadrenocorticism and non-adrenal disease. Vet. Rec., 150: 773-776.
- CHAPMAN, A.B.; ZAMUDIO, S.; WOODMANSEE, W.; MEROUANI, A.; OSORIO, F.; JOHNSON, A.; MOORE, L.G.; DAHMS, T.; COFFIN, C.; ABRAHAM, W.T.; SCHRIER, R.W. (1997). Systemic and renal hemodynamic changes in the luteal phase of the menstrual cycle mimic early pregnancy. Renal Physiol., 273(5): 777-782.
- CHEN Y, WANG Z, CHEN X, LIU Y, ZHANG H, SUN T. (2010). Identification of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from koumiss, a traditional fermented mare's milk. J. Dairy Sci. 93(3): 884-892.
- CHEN, K.; MERRILL, D.C.; ROSE, J.C. (2007). The importance of angiotensin II subtype receptors for blood pressure control during mouse pregnancy. Reprod. Sci., 14(7): 694-704.
- CHEN, L.Y.; LI, P.; HE, Q.; JIANG, L.Q.; CUI, C.J.; XU, L.; LIU, L.S. (2002). Transgenic study of the function of chymase in heart remodeling. J. Hypertens., 20(10): 2047-2055.
- CHEN, Y.F.; NAFTILAN, A.J.; OPARIL, S. (1992). Androgen dependent angiotensinogen and renin messenger RNA expression in hypertensive rats. Hypertension 19: 456-463.
- CHIDAMBARAM, M.; DUNCAN, J.; LAI, V.; CATTRAN, D.; FLORAS, J.; SCHOLEY, J.; MILLER, J. (2002). Variation in the rennin angiotensin system throughout the normal menstrual cycle. J. Am. Soc. Nephrol., 13: 446-452.
- CINGOLANI, H.E.; VILLA-ABRILLE, M.C.; CORNELLI, M.; NELLY, A.; ENNIS, I.L.; GARCIARENA, C.; SUBURO, A.M.; TORBIDONI, V.; CORREA, M.V.; CAMILIÓN DE HURTADO, M.D.; AIELLO, E.A. (2006). The positive inotropic effect of angiotensin II. Role of endothelin-1 and reactive oxygen species. Hypertension 47: 727.
- CLANCY, K.B.; NENKO, I.; JASIENSKA, G. (2006). Menstruation does not cause anemia: endometrial thickness correlates positively with erythrocyte count and haemoglobin concentration in premenopausal women. Am. J. Hum. Biol., 18(5): 710-713.
- CLARK, P.; MOGG, T.G.; TVEDTEN, H.W.; KORCAL, D. (2002). Artfactual changes in equine blood following storage, detected using the Advia 120 hematology analyzer. Vet. Clin. Pathol. 31(2): 90-94.
- CLARKE, L.L.; ARGENZIO, R.A.; ROBERTS, M.C. (1990). Effect of meal feeding on plasma volume and urinary electrolyte clearance in ponies. Am. J. Vet. Res., 51: 571-576.

- CLARKE, L.L.; GANJAM, V.K.; FICHTENBAUM, B. (1988). Effects of feeding on renin angiotensin aldosterone system of the horse. Am. J. Physiol., 254: 524-530.
- CLARKE, L.L.; GARNER, H.E.; HATFIELD, D. (1982). Plasma volume, electrolyte and endocrine changes during onset of laminitis hypertension in horses. Am. J. Vet. Res., 43(9): 1551-1555.
- CLARKE, L.L.; ROBERTS, M.C.; GRUBB, B.R.; ARGENZIO, R.A. (1992). Short-term effects of aldosterone on Na-Cl transport across equine colon. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol., 262: 939-946.
- COLLINS, A.; PALMER, E.; BÉZARD, J.; BURKE, J.; DUCHAMP, G.; BUCKLEY, T. (1997). A comparison of the biochemical composition of equine follicular fluid and serum at four different stages of the follicular cycle. Equine Vet. J. Suppl. 25: 12-16.
- COOLEY, J.L.; HINCHCLIFF, K.W.; McKEEVER, K.H.; LAMB, D.R.; MUIR, W.W. 3rd. (1994). Effect of furosemide on plasma atrial natriuretic peptide and aldosterone concentrations and renin activity in running horses. Am. J. Vet. Res. 55(2): 273-7.
- COOMER, R.; FORHEAD, A.J.; BATHE, A.P.; HEAD, M.J. (2003). Plasma angiotensin converting enzyme (ACE) concentration in Thoroughbred race horses. Equine Vet. J. 35(1): 96-98.
- COSTA, A.; FAGUNDES-MOURA, C.; PEREIRA, V.; SILVA, L.; VIEIRA, M.; SANTOS, R.; DOS REIS, A. (2003). Angiotensin-(1-7): a novel peptide in the ovary. Endocrinology 144 (5): 1942-1948.
- COSTA, M.F.; CARMONA, A.K.; ALVES, M.F.; RYAN, T.M.; DAVIES, H.M.; ANDERSON, G.A.; SLOCOMBE, R.F. (2011). Determination of angiotensin I-converting enzyme activity in equine blood: lack of agreement between methods of analysis. J. Vet. Sci. 12(1): 21-25.
- COULTHARD, M.G.; LAMB, W.H. (2002). Polycythaemia and hypertension caused by renal artery stenosis. Arch. Dis. Child. 86: 307-308.
- CRANE, M.G.; HARRIS, J.J. (1969). Plasma renin activity and aldosterone excretion rate in normal subjects. II. Effect of oral contraceptive agents. J. Endocrinol. Metabol. 29(4): 558-562.
- CRAVANA, C.; MEDICA, P.; PRESTOPINO, M.; FAZIO, E.; FERLAZZO, A. (2010). Effects of competitive and noncompetitive showjumping on total and free iodothyronines, β -endorphin, ACTH and cortisol levels of horses. Equine. Vet. J. 42 (38): 179-184.
- CROWELL-DAVIS, S.L. (2007). Sexual behaviour of mares. Horm. Behav. 52(1): 12-17.
- CUDD, T.A.; LEBLANC, M.; SILVER, M.; NORMAN, M.; MADISON, J.; KELLER-WOOD, M.; WOOD, C.E. (1995). Ontogeny and ultradian rhythms of adrenocorticotropin and cortisol in the late-gestation fetal horse. J. Endocrinol. 144: 271-283.
- CUERVO-ARANGO, J.; NEWCOMBE, J.R. (2008). Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. Theriogenology 69(6): 681-687.
- CUNNINGHAM, J.G. (2003). Sistema endocrino. En: Fisiología Veterinaria. 3^a ed. Editorial McGraw-Hill, Interamericana. México, pp. 458-464.
- CUNNINGHAM, J.G.; KLEIN, B.G. (2009). Fisiología Veterinaria. 4^a edición. Elsevier.
- DADLANI, A.G.; CHANDWANI, S.; DESAI, C.A.; PADYA, K.D. (1982). Serum electrolytes during various phases of menstrual cycle. Indian J. Physiol. Pharmacol. 26(4): 302-306.
- DAELS, P.F.; HUGHES, J.P. (1993). The normal estrous cycle. En: Equine Reproduction. McKinnon, A.O.; Voss, J.L. (eds.). Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 121-132.
- DANDREA, J.; COOPER, S.; RAMSAY, M.; KELLER-WOODS, M.; BROUGHTON, P.F.; SYMONDS, M.; STEPHENSON, T. (2002). The effects of pregnancy and maternal nutrition on the maternal renin angiotensin system in sheep. Exp. Physiol. 87(3): 353-359.
- DAPPER, D.V.; DIDIA, B.C. (2002). Haemorheological changes during the menstrual cycle. East Afr. Med. J., 79(4): 181-183.
- DAVIES MOREL, M.C.; NEWCOMBE, J.R.; HAYWARD, K. (2010). Factors affecting pre-ovulatory follicle diameter in the mare: the effect of mare age, season and presence of other ovulatory follicles (multiple ovulation). Theriogenology 74(7): 1241-1247.
- DAVIS, J.L.; GARDNER, S.Y.; SCHWABENTON, A.B.; BREUHAUS, B. (2002). Congestive heart failure in horses: 14 cases (1984-2001). J. Am. Vet. Med. Assoc. 220: 1512-1515.

- DE GOOYER, T.E.; SKINNER, S.L.; WLODEK, M.E.; KELLY, D.J.; WILKINSON-BERKA, J.L. (2004). Angiotensin II influences ovarian follicle development in the transgenic (mRen-2)27 and Sprague-Dawley rat. *J. Endocrinol.* **180**(2): 311-324.
- DE MELLO COSTA, M.F.; ANDERSON, G.A.; FAVIES, H.M.; SLOCOMBE, R.F. (2011). Effects of acute exercise on angiotensin I-converting enzyme (ACE) activity in horses. *Equine Vet. J.* (En prensa).
- DE VITO, E.; CABRERA, R.R.; GUARDIA, D.C. (1988). Changes during lactation in the renin-like enzyme concentration in rat luteal tissue. *Acta. Endocrinol.* **116**(4): 526-530.
- DE VITO, E.; GUARDIA, D.C.; CABRERA, R.R. (1989). Cyclical changes in plasma renin during the oestrous cycle in rats: synchronized effect of oestrogen and progesterone. *J. Endocrinol.* **121**(2): 261-267.
- DEL PILAR, M.; RAMIREZ-EXPOSITO, M.J.; GARCIA, M.J.; MAYAS, M.D.; MARTINEZ-MARTOS, J.M. (2009). Ovarian renin-angiotensin system-regulating aminopeptidases are involved in progesterone overproduction in rats with mammary tumours induced by N-methyl nitrosourea. *Anticancer Res.* **29**(11): 4633-4637.
- DEROOS, R. (1969). Effects of mammalian corticotropin and progesterone on corticoid production by chicken adrenal tissue in vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.* **13**: 455-459.
- DESMECHT, D.; LINDEN, A.; AMORY, H.; ART, T.; LEKEUX, P. (1996). Relationship of plasma lactate production to cortisol release following competition of different types of sporting events in horses. *Vet. Res. Comm.* **20**(4): 371-379.
- DICKSON, S.E.; FRASER, H.M. (2000). Inhibition of early luteal angiogenesis by gonadotropin-releasing hormone antagonist treatment in the primate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **85**(6): 2339-2344.
- DIELEMAN, S.J.; BEVERS, M.M., VAN TOL, H.T.M., WILLEMSE, A.H. (1986). Peripheral plasma concentrations of oestradiol, progesterone, cortisol, LH and prolactin during the oestrous cycle in the cow, with emphasis on the perioestrous period. *Anim. Reprod. Sci.* **10**: 275-292.
- DIMMICK, M.A.; GIMENEZ, T.; SCHALAGER, R.L. (1993). Ovarian follicular dynamics and duration of estrus and diestrus in Arabian vs Quarter Horse mares. *Anim. Reprod.* **31**:123-129.
- DOLEZEL, R.; RUZICKOVA, K.; MACECKOVA, G. (2012). Growth of the dominant follicle and endometrial folding after administration of hCG in mares during oestrus. *Vet. Med.* **57**(1): 36-41.
- DOMINGO, R., SATUÉ K. (2008). Serum renin and angiotensin II concentrations in Spanish Purebred mares during pregnancy. *Reprod. Dom. Anim.* **43**(4): 56.
- DOMINGO, R. (2008). Actuación del eje renina angiotensina aldosterona y otras hormonas de la gestación en la yegua Pura Raza Española. Tesis Doctoral. Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria, Universidad CEU-Cardenal Herrera, Moncada, Valencia.
- DONADEU, F.X.; GINTHER, O.J. (2002). Changes in concentrations of follicular fluid factors during follicle selection in mares. *Biol. Reprod.* **66**(4): 1111-1118.
- DONADEU, F.X.; PEDERSEN, H.G. (2008). Follicle development in mares. *Reprod. Dom. Anim.* **43**(2): 224-231.
- DRIANCOURT, M.A.; PALMER, E. (1984). Time of ovarian follicular recruitment in cyclic pony mares. *Theriogenology* **21**(4): 591-600.
- DUPONT, A.G.; BROUWERS, S. (2010). Brain angiotensin peptides regulate sympathetic tone and blood pressure. *J. Hypertens.* **28**(8): 1599-610.
- ECKER, G.L.; LINDINGER, M.I. (1995). Water and ion losses during the cross country phase of eventing. *Equine Vet. J.* **20**: 111-119.
- EDNER, A.H.; NYMAN, G.C.; ESSEN-GUSTAVSSON, B. (2007). Metabolism before, during and after anaesthesia in colic and healthy horses. *Acta Vet. Scand.* **49**:34.
- EL AMOROUSI, S.; SOLIMAN, M.K. (1965). Serum calcium, potassium and sodium of healthy horses three to fourteen years of age. *Can. Vet. J.* **6**(10): 253-256.
- ERBER, R.; WULF, M.; ROSE-MEIERHOFER, S.; BECKER-BIRCK, M.; MÖSTL, E.; AURICH, J.; HOFFMANN, G.; AURICH, C. (2012). Behavioral and physiological responses of young horses to different weaning protocols: A pilot study. *Stress* **15**(2): 184-194.
- ERDÖS, E.G. (2004). The discovery of captopril: reply. *FASEB J.* **18**(2): 226.

- ERIN, K.; MANDI, V.; DAWN, S.; STEPHANIE, R.; BARBARA, M.; BARRY, F. (2004). Administration of cortisol suppresses the preovulatory rise in LH but does not inhibit ovulation in the mare. Proceeding of 37th Annual Meeting of Society for the Study of Reproduction.
- ESCRIBANO, B.M.; CASTEJÓN, F.M.; AGÜERA, E.I.; MUÑOZ, A.; RUBIO, M.D. (1995, a). Estudio del leucograma en potros de Pura Raza Española sometidos a un ejercicio de intensidad creciente. Med. Vet. 12 (3): 188-193.
- ESCRIBANO, B.M.; CASTEJÓN, F.M.; SANTIESTEBAN, R.; AGÜERA, E.I.; RUBIO, M.D. (1995, b). Effect of training on diverse hematologic parameters in Andalusian horses. Rev. Esp. Fisiol. 51(4): 207-212.
- EVANS, J.W.; HUGHES, J.P.; NEELY, D.P., STABENFELDT, G.H.; WINGER, C.M. (1979). Episodic LH secretion patterns in the mare during the oestrous cycle. J. Reprod. Fertil. Suppl. 27: 143-150.
- EVANS, M.J.; ALEXANDER, S.L.; IRVINE, C.H.; KITSON, N.E.; TAYLOR, T.B. (2011). Administration of a gonadotropin-releasing hormone antagonist to mares at different times during the luteal phase of the estrous cycle. Anim. Reprod. Sci. 127(3-4): 188-196.
- FAGUNDES, V.G.; LAMAS, C.C.; FRANCISCHETTI, E.A. (1992). Renin-angiotensin-aldosterone system in normal and hypertensive pregnancy. Response to postural stimuli. Hypertension 19:1174-1178
- FAWCETT, D.W. (1997). Tratado de histología. 12ª ed. McGraw-Hill Interamericana, pp. 794-800.
- FAZIO, E.; MEDICA, P.; FERLAZZO, A. (2009). Seasonal patterns of circulating β -endorphin, adrenocorticotrophic hormone and cortisol levels in pregnant and barren mares. Bul. J. Vet. Med. 12(2): 125-135.
- FAZIO, E.; MEDICA, P.; GALVANO, E.; CRAVANA, C.; FERLAZZO, A. (2011). Changes in the cortisol and some biochemical patterns of pregnant and barren jennies (*Equus asinus*). Veterinarski Arhiv. 81(5): 563-574.
- FECTEAU, K.A.; HAFFNER, J.C.; EILER, H. (2005). Equine pars intermedia pituitary adenoma (Cushing's disease): steroid hormone profiles in healthy horses undergoing dexamethasone suppression, thyrotropin releasing hormone (TRH), and adenocorticotrophic hormone (ACTH) stimulation. J. Vet. Intern. Med. 19: 478-479.
- FEITOSA, L.C.S.; VIANA, G.E.N.; REIS, A.M.; COSTA, A.P.R. (2010). Ovarian renin-angiotensin system. Rev. Bras. Reprod. Anim. 34(4): 243-251.
- FERRARIO, C. M. (2006). Role of angiotensin II in cardiovascular disease therapeutic implications of more than a century of research. J.R.A.A.S. 7(1): 3-14.
- FERRARIO, C.M.; MARTELL, N.; YUNIS, C.; FLACK, J.M.; CHAPPELL, M.C.; BROSNIHAN, K.B.; DEAN, R.H.; FERNÁNDEZ, A.; NOVOKOV, S.V.; PINILLAS, C.; LUQUE, M. (1998). Characterization of Angiotensin (1-7) in the urine of normal and essential hypertensive subjects. Am. J. Hypertens. 11: 137-146.
- FERREIRA, R.; GASPERIN, B.; ROVANI, M.; SANTOS, J.; BARRETA, M.; BOHRER, R.; PRICE, C.; GONÇALVES, P.B. (2011, a). Angiotensin II Signaling Promotes Follicle Growth and Dominance in Cattle. Endocrinology DOI:10.1210/en.2011-1146.
- FERREIRA, R.; GASPERIN, B.; SANTOS, J.; ROVANI, M.; SANTOS, R.A.; GUTIERREZ, K.; OLIVEIRA, J.F.; REIS, A.M.; GONÇALVES, P.B. (2011, b). Angiotensin II profile and mRNA encoding RAS proteins during bovine follicular wave. J.R.A.A.S. 12(4): 475-482.
- FERREIRA, R.; OLIVEIRA, J.; FERNANDES, R.; MORAES, J.; GONÇALVES, P. (2007). The role of angiotensina II in the early stages of bovine ovulation. Reproduction 134: 713-719.
- FERREIRA-DIAS, G.; COSTA, A.S.; MATEUS, L.; KORZEKWA, A.; REDMER, D.A.; SKARZYNSKI, D.J. (2006). Proliferative processes within the equine corpus luteum may depend on paracrine progesterone actions. J. Physiol. Pharmacol. 57(8): 139-151.
- FERRIS, R.A.; MCCUE, P.M. (2010). The effects of dexamethasone and prednisolone on pituitary and ovarian function in the mare. Equine Vet. J. 42: 438-443.
- FLISINSKA-BOJANOWSKA, A.; GILL, J.; GRZELKOWSKA, K. (1992). Diurnal changes in cortisol level, neutrophil number and lysozyme activity in foals during the first 13 weeks of life and in their lactating mothers. Zentral. Vet. Reihe A 39(9): 641-647.
- FLISINSKA-BOJANOWSKA, A.; GILL, J.; KOMOSA, M. (1991, a). Influence of pregnancy and lactation on diurnal and seasonal changes in lactic acid and pyruvic acid levels and in values of pH, pCO₂ and pO₂ in the mare blood. Comp. Biochem. Physiol. 98: 497-501.

- FLISINSKA-BOJANOWSKA, A.; GILL, J.; KOMOSA, M.; KOMPANOWSKA-JEZIERSKA, E. (1989). A study of diurnal changes in cortisol and glucose levels and FDPA activity in foals during the first 13 weeks of life and in their lactating mothers. *Comp. Biochem. Physiol. A. Comp. Physiol.* 94(2):283-288.
- FLISINSKA-BOJANOWSKA, A.; KOMOSA, M.; GILL, J. (1991, b). Influence of pregnancy on diurnal and seasonal changes in cortisol, T3 and T4 levels in mare blood serum. *Comp. Biochem. Physiol.* 98: 23-30.
- FORHEAD, A.J.; BROUGHTON, P.F.; TAYLOR, P.; BAKER, K.; BALOUZET, V.; GIUSSANI, D.; FOWDEN, A. (2000). Development changes in blood pressure and the renin angiotensin system in pony fetuses during the second half of gestation. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 56: 693-703.
- FORHEAD, A.J.; PIPKIN, F.B.; SUTHERLAND, M.F.; FOWDEN, A.L. (1997). Changes in the maternal and fetal renin angiotensin systems in response to angiotensin II type 1 receptor blockade and angiotensin-converting enzyme inhibition in pregnant sheep during late gestation. *Exp. Physiol.* 82: 761-776.
- FORSLING, M.L.; AKERLUND, M.; STROMBERG, P. (1981). Variations in plasma concentrations of vasopressin during the menstrual cycle. *J. Endocrinol.* 89: 263-266.
- FOWDEN, A.L.; FORHEAD, A.J.; WHITE, K.L.; TAYLOR, P.M. (2000). Equine uteroplacental metabolism at mid and late gestation. *Exp. Physiol.* 85: 539-545.
- FREUDENTHALER, S.M.; SCHREEB, K.; KORNER, T.; GLEITER, C.H. (1999). Angiotensin II increases erythropoietin production in healthy human volunteers. *Eur. J. Clin. Invest.* 29(10): 816-823.
- FRIED, W.; BARONE-VARELAS, J.; BARONE, T.; ANAGNOSTOU, A. (1982). Effect of angiotensin infusion on extrarenal erythropoietin production. *J. Lab. Clin. Med.* 99(4): 520-525.
- FRÖLICH, J.C.; HOLLIFIELD, J.W.; DORMOIS, J.C.; FROLICH, B.L.; SEYBERTH, H.; MICHELAKIS, A.M.; OATES, J.A. (1976). Suppression of plasma rennin activity by indomethacin in man. *Circulation Res.* 39: 447-452.
- FULLER, P.J. (2006). Aldosterone secretion and action. En: *Endocrinology*. DeGroot LJ, Jameson JL (eds.). 5th ed., Elsevier Saunders, Philadelphia, P.A, pp. 2319–2327.
- FUNDER, J.W. (2002). New biology of aldosterone, and experimental studies on the selective aldosterone blocker eplerenone. *Am. Heart J.* 144(5): 8-11.
- FYHRQUIST, F.; SAIJONMAA, O. (2008). Renin-angiotensin system revisited. *J. Intern. Med.* 264(3): 224-236.
- GALINDO, C.; MARTINS, C.; DE ANGELINS, F.; DE OLIVEIRA, A.; DE LACERDA NETO, J.C. (2007). Hematological values and total protein of Brasileiro de Hipismo and Breton mares during pregnancy. *Cienc. Rural* 37(6): 1695-1700.
- GALLAGHER, P.E.; LI, P.; LENHART, J.R.; CHAPPELL, M.C.; BROSNIHAN, K.B. (1999). Estrogen regulation of angiotensin-converting enzyme mRNA. *Hypertension* 33:323-328.
- GARCIA, M.J.; MARTINEZ-MARTOS, J.M.; MAYAS, M.D.; CARRERA, M.P.; DE LA CHICA, S.; CORTES, P.; RAMIREZ-EXPOSITO, M.J. (2008). Hormonal status modifies Renin-Angiotensin System regulating aminopeptidases and vasopressin-degrading activity in the Hypotalamus-Pituitary-Adrenal Axis of Female Mice. *Med. Chem.* 4: 336-347.
- GARDNER, S.Y.; ATKINS, C.E.; SAMS, R.A.; SCHWABENTON, A.B.; PAPICH, M.G. (2004). Characterization of the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of the angiotensin converting enzyme inhibitor, enalapril, in horses. *J. Vet. Intern. Med.* 18: 231-237.
- GASTAL, E.I. (2011, a). Ovulation. Part 1. Follicle development and endocrinology during the periovulatory period. En: *Equine Reproduction*. McKinnon, A.O.; Squires, E.L.; Vaala, W.E.; Dickson, D.V. (Eds.). 2nd ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell, pp. 2020-2031.
- GASTAL, E.I. (2011, b). Ovulation. Part 2. Ultrasonographic morphology of the preovulatory follicle. En: *Equine Reproduction*. McKinnon, A.O.; Squires, E.L.; Vaala, W.E.; Dickson, D.V. (Eds.). 2nd ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell, pp. 2032-2054.
- GASTAL, E.L. (2009). Recent advances and new concepts on follicle and endocrine dynamics during the equine periovulatory period. *Anim. Reprod.* 6(1): 144-158.
- GASTAL, E.L.; BERGFELT, D.R.; NOGUEIRA, G.P.; GASTAL, M.O.; GINTHER, O.J. (1999). Role of luteinizing hormone in follicle deviation based on manipulating progesterone concentrations in mares. *Biol. Reprod.* 61: 1492-1498.

- GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A.; NEVES, A.P.; PETRUCCI, B.P.L.; MATTOS, R.C.; GINTHER, O.J. (2008). Miniature ponies: similarities and differences from larger breeds in follicles and hormones during the estrous cycle. J. Equine Vet. Sci. 28: 508-517.
- GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. (1997). Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. Biol. Reprod. 57: 1320-1327.
- GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; GINTHER, O.J. (2006, a). Relationships of changes in B-mode echotexture and colour-Doppler signals in the wall of the preovulatory follicle to changes in systemic oestradiol concentrations and the effects of human chorionic gonadotrophin in mares. Reproduction 131: 699-709.
- GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; NOGUEIRA, G.P.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. (2000). Temporal interrelationships among luteolysis, FSH and LH concentrations and follicle deviation in mares. Theriogenology 53(4): 925-940.
- GASTAL, E.L.; SILVA, L.A.; GASTAL, M.O.; EVANS, M.J. (2006, b). Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares. Anim Reprod. 94:186-190.
- GATTA, D.; GREPPI, G.F.; CASINI, L.; PASQUINI, M.; COLOMBANI, B.; NORDIO, C. (1992). Feeding schedule and daily fluctuation of haematological parameters in horses. Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, Göttingen, pp. 86.
- GEHLEN, H.; SUNDERMANN, T.; ROHN, K.; STADLER, P. (2008). Aldosterone plasma concentration in horses with heart valve insufficiencies. Res. Vet. Sci. 86(2): 340-344.
- GEHLEN, H.; VIEHT, J.C.; STADLER, P. (2003). Effects of the ACE inhibitor quinapril on echocardiographic variables in horses with mitral valve insufficiency. J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med. 50(9): 460-465.
- GENNARI-MOSER, C.; KHANKIN, E.V.; SCHÜLLER, S.; ESCHER, M.G.; FREY, B.N.; PORTMANN, C.B.; BAUMANN, M.U.; LEHMANN, A.D.; SURBEK, A.; KARUMANCHI, S.A.; FREY, F.J.; MOHAUPT, M.G. (2011). Regulation of placental growth by aldosterone and cortisol. Endocrinology 152(1): 263-271.
- GERALD, J.P.; ALBRETCH, E.D. (1995). Actions of placental and fetal adrenal steroid hormones in primate pregnancy. Endocrine Rev. 16: 608-634.
- GILDEA, J.J.; ISRAEL, J.A.; JOHNSON, A.K.; ZHANG, J.; JOSE, P.A.; FELDER, R.A. (2009). Caveolin-1 and dopamine-mediated internalization of NaKATPase in human renal proximal tubule cells. Hypertension 54(5): 1070-1076.
- GILL, J., KOWNACKA, M. (1979). Seasonal changes in erythrocyte, hemoglobin and leukocyte indexes in pregnant mares of thoroughbred horses. Bull. Acad. Pol. Sci. Biol. 27(2):143-148.
- GILL, J.; WANSKA, E. (1978). Seasonal changes in erythrocyte, hemoglobin and leukocyte indexes in barren mares of thoroughbred horses. Bull. Acad. Pol. Sci. Biol. 26(5): 347-353.
- GILL, J.; FLISINSKA-BOJANOWSKA, A.; GRZELKOWSKA, K. (1994). Diurnal seasonal changes in the WBC number, neutrophil percentage and lysozyme activity in the blood of barren, pregnant and lactating mares. Adv. Agric. Sci. 3: 15-23.
- GILL, J.; KOMPANOWSKA-JEZIERSKA, E. (1986). Seasonal changes in the red blood cell indices in Arabian brood mares and their foals. Comp. Biochem. Physiol. A 83(4): 643-651.
- GILL, J.; KOMPANOWSKA-JEZIERSKA, E.; JAKUBOW, K.; KOTT, A.; SZUMSKA, D. (1985). Seasonal changes in the white blood cell system, lysozyme activity and cortisol level in Arabian brood mares and their foals. Comp. Biochem. Physiol. 81(3): 511-523.
- GILL, J.; RASTAWICKA, M. (1986). Diurnal changes in the haematological in the blood of racing arabians horses. Polskie-Arch. Wet. 26: 169-179.
- GINTHER, O.J. (1979). Reproductive Biology of the Mare: basics and applied aspects. Cross Plains, WI: Equiservices Publishing, pp. 315-323.
- GINTHER, O.J. (1990). Folliculogenesis during the transitional period and early ovulatory season in mares. J. Reprod. Fertil. 90(1): 311-320.
- GINTHER, O.J. (1992). Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects. 2nd ed. Cross Plains, WI: Equiservices Publishing, pp: 224-226.
- GINTHER, O.J. (1995). Ultrasonic imaging and animal reproduction: Fundamentals, Book 1. Ed: Cross Plains, WI: Equiservices Publishing, pp. 27-82.

- GINTHER, O.J. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim. Reprod. Sci.*, 60-61: 61-79.
- GINTHER, O.J. (2011). The end of the tour de force of the corpus luteum in mares. *Theriogenology* (En prensa).
- GINTHER, O.J.; BEG, M.A. (2011). Hormone concentration changes temporally associated with the hour of transition from preluteolysis to luteolysis in mares. *Anim. Reprod.* 129(1-2): 67-72.
- GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; BERGFELT, D.R.; DONADEU, F.X.; KOT, K. (2001). Follicle selection in monovular species. *Biol. Reprod.* 65(3): 638-647.
- GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; BERGFELT, D.R.; KOT, K. (2002). Activin A, estradiol, and free insulin-like growth factor I in follicular fluid preceding the experimental assumption of follicle dominance in cattle. *Biol. Reprod.* 67(1): 14-19.
- GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; GASTAL, M.O.; GASTAL, E.L. (2004, a). Follicle dynamics and selection in mares. *Anim. Reprod.* 1: 45-63.
- GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; GASTAL, M.O.; GASTAL, E.L.; BAERWALD, A.R.; PIERSON, R.A. (2005). Systemic concentrations of hormones during development of follicular waves in mares and women: a comparative study. *Reproduction* 130: 379-388.
- GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; NEVES, A.P.; MATTOS, R.C.; PETRUCCI, B.P.; GASTAL, M.O.; GASTAL, E.L. (2008). Miniature ponies: 2. Endocrinology of the estrous cycle. *Reprod. Fertil. Dev.*, 20(3): 386-390.
- GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R. (1993). Growth of small follicles and concentrations of FSH during the equine oestrous cycle. *J. Reprod. Fertil.* 99(1): 105-111.
- GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; DUARTE, L.F.; BEG, M.A. (2009). Follicle suppression of circulating follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone before versus after emergence of the ovulatory wave in mares. *Theriogenology* 72(4): 445-452.
- GINTHER, O.J.; GASTAL, M.O.; GASTAL, E.L.; BERGFELT, D.R.; BAERWALD, A.R.; PEARSON, R.A. (2004, b). Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and women. *Biol. Reprod.* 71: 1195-1201.
- GINTHER, O.J.; PIERSON, R.A. (1984). Ultrasonic anatomy and pathology of the equine uterus. *Theriogenology* 21(3): 505-516.
- GINTHER, O.J.; PIERSON, R.A. (1989). Regular and irregular characteristics of ovulation and the interovulatory interval in mares. *J. Equine Vet. Sci.* 9: 4-12.
- GINTHER, O.J.; UTT, M.D.; BEG, M. (2007). Follicle deviation and diurnal variation in circulating hormone concentrations in mares. *Anim. Reprod. Sci.* 100: 197-203.
- GONÇALVES, P.; FERRERIRE, R.; GASPERIN, B.; OLIVEIRA, J.F. (2012). Role of angiotensin in ovarian follicular development and ovulation in mammals: a review of recent advances. *Reproduction* 143: 11-20.
- GONÇALVES, P.B.D.; PORTELA, V.M.; FERREIRA, R.; GASPERIN, B.G. (2010). Role of angiotensina II on follicle development and ovulation. *Anim. Reprod.* 7(3): 140-145.
- GORDON, M.E.; MCKEEVER, K.H.; BETROS, C.L.; MANSO, H.C. (2007). Exercise induced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin, and cortisol in horses. *Vet. J.* 173(3): 532-540.
- GORDON, M.S.; CHIN, W.W.; SHUPNIK, M.A. (1992). Regulation of angiotensinogen gene expression by estrogen. *J. Hypertens.* 10: 361-366.
- GORECKA, A.; GOLONKA, M.; JEZERSKI, T. (2004). Sexual behaviour and heart rate in mares during oestrus control. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 22(4): 631-636.
- GOSSMANN, J.; BURKHARDT, R.; HARDER, S.; LENZ, T.; SELDMEYER, A.; KLINKHARDT, U.; GEIGER, H.; SCHEUERMANN, E.H. (2001). Angiotensin II infusion increase plasma erythropoietin levels via an angiotensin II type 1 receptor dependent pathway. *Kidney Int.* 60(1): 83-86.
- GOTTLIEB-VEDI, M.; DAHLBORN, K.; JANSSON, A.; WROBLEWSKI, R. (1996). Elemental composition of muscle at rest and potassium levels in muscle, plasma and sweat of horses exercising at 20 degrees C and 35 degrees C. *Equine Vet. J. Suppl.* 22: 35-41.
- GOURANINEZHAD, S.; KOHRAM, H.; KHAJEH, G.H.; MASHHOORI, M. (2006). Estradiol and progesterone changes in estrus cycle of Arabian mare in khouzestan region. *Sci. Res. Ir. Vet. J.* 10(12): 65-71.
- GRAY, M.J., STRAUSFELD, K.S.; WATANABE, M.; SIMS, E.A.; SOLOMON, S. (1968). Aldosterone secretory rates in the normal menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 28(9): 1269-1275.

- GREPPI, G.F.; CASINI, L.; GATTA, D.; ORLANDI, M.; PASQUINI, M. (1996). Daily fluctuations of haematology and blood biochemistry in horses fed varying levels of protein. Equine Vet. J. **28(5)**: 350-353.
- GROENENDYK, S.; ENGLISH, P.B.; ABETZ, I. (1988). External balance of water and electrolytes in the horse. Equine Vet. J. **20**: 189-193.
- GRONDIN, T.M.; DEWITT, S.F. (2010). Normal Hematology of the Horse and Donkey. En: Schalm's Veterinary Hematology. Weiss, D.J.; Wardrop, K.J. (eds.). 6^a ed. Ames, Wiley-Blackwell, pp. 821-828.
- GUL, S.T.; AHMAD, M.; KHAN, A.; HUSSAIN, I. (2007). Haemato-biochemical observations in apparently healthy equine species. Pakistan Vet. J. **27(4)**: 155-158.
- GUTHRIE, G.; CECIL, S.; DARDEN, E.; KOTCHEN, T. (1982). Dynamics of renin and aldosterone in the Thoroughbred horse. Gen. Comp. Endocrinol. **48**: 296-299.
- GUTHRIE, G.; CECIL, S.; KOTCHEN, T. (1980). Renin, aldosterone and cortisol in the thoroughbred horse. J. Endocrinol. **85**: 49-53.
- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. (1996). Hormonas corticosuprarrenales. En: Tratado de Fisiología Médica. Guyton, A.C.; Hall, J.E. (eds.). 9^a ed. Interamericana, McGraw-Hill, pp. 1047-1062.
- HAFFNER, J.C.; FECTION, K.A.; EILER, H.; TSERENDORJ, T.; HOFFMAN, R.M.; OLIVER, J.W. (2010). Blood steroid concentrations in domestic Mongolian horses. J. Vet. Diagn. Invest. **22**: 537-543.
- HAGEDOM, H.W.; SCHULZ, R. (1997). Cortisol levels in blood and urine of trotting horses. B.M.T.W. **110(11-12)**: 456-460.
- HAGEMANN, A. (1997). Solution of methodological problems in prorenin measurement and investigations of tissue renin-angiotensin systems in the female reproductive tract. Dan. Med. Bull. **44(5)**: 486-498.
- HAGEMANN, A.; DANTZER, V.; NIELSEN, A.H.; POULSEN, K. (1993). Renin and prorenin in reproductive tissues during gestation in pigs and cattle. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. **20(1)**: 41-50.
- HAGEMANN, A.; NIELSEN, A.H.; ASSEY, R.J.; HYTTEL, P.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F.; POULSEN, K. (1994). Prorenin and active renin concentrations in ovarian follicular fluid increase after the LH peak in superovulated heifers. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. **21(8)**: 639-648.
- HAIMOV, I.; LAVIE, P. (1995). Potential of melatonin replacement therapy in older patients with sleep disorders. Drugs Aging J. **7(2)**: 75-78.
- HALL, J.E.; BRANDS, M.W.; HENEGAR, J.R. (1999). Angiotensin II and long term arterial pressure regulation: the overriding dominance of the kidney. J. Am. Soc. Nephrol. **10(12)**: 258-265.
- HALLBERG, L. (1979). Menstrual blood loss and iron deficiency. Scand. J. Haematol. **22**: 17-20.
- HANSON, C.M.; KLINE, K.H.; FOREMAN, J.H.; FREY, L.P.; COOPER, S.M. (1995). Heart and spleen mass related to blood parameter changes after epinephrine injection. Equine Vet. J. Suppl. **18**: 113-116.
- HAREWOOD, E.I.; MCGOWAN, C.M. (2005). Behavioral and physiological responses to stabling in Naive Horses. J. Equine Vet. Sci. **4**: 164-170.
- HAREWOOD, W.; GILLIN, A.; MOHAMED, S.; WILLIS, N.; LAZZARO, V.; DUGGIN, G.; TILLER, D. (1996). Cyclical changes in the rennin-angiotensin-aldosterone system during the menstrual cycle of the baboon (*Papio hamadryas*). J. Med. Primatol. **25 (4)**: 267-271.
- HARMAN, J.; WARD, M. (2001). The role of nutritional therapy in the treatment of equine Cushing syndrome and laminitis. Altern. Med. Rev. Suppl. **6**: 4-16.
- HARRIS, P.A. (1993). Preliminary investigations into factors that affect plasma aldosterone concentrations in horses. Res. Vet. Sci. **54**: 319-328.
- HARRIS, P.A.; SNOW, D.H. (1992). Plasma potassium and lactate concentrations in thoroughbred horses during exercise of varying intensity. Equine Vet. J. **23**: 220-225.
- HARVEY, J. W. (1990). Normal haematologic values. En: Equine Clinical Neonatology. Koterba, AM.; Drummond, W.H.; Kosch, P.C. (eds.). Lea & Febiger. Philadelphia, pp. 561-570.
- HARVEY, J.W.; ASQUITH, R.L.; PATE, M.G.; KIPIVELTO, J.; CHEN, C.L.; OTT, E.A. (1994). Haematological findings in pregnant, postparturient and nursing mares. Comp. Hematol. Int. **4**: 25-29.

- HARVEY, J.W.; PATE, M.G.; KIPIVELTO, J.; ASQUITH, R. (2005). Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. *Vet. Clin. Pathol.* 34(3): 248-254.
- HARVEY, R.B.; HAMBRIGHT, M.B. (1985). Normal serum chemistry and hematology values of the American miniature horse. *Equine Pract.* 7: 6-8.
- HAULICA, I.; STRATONE, A.; VASILIU, I.; ROSCA, V.; COCULESCU, M.; BOISTEANU, D. L'influence du cycle oestral sur le système rénine-angiotensine (SRA) du complexe hypothalamo-hypophysio-gonadal chez le rat femelle. *Physiologie*, 25(1-2): 3-8.
- HAUS, E.; SMOLENSKY, M.H. (1999). Biologic rhythms in the immune system. *Chronobiol. Int.* 16(5): 581-622.
- HAUSS, E. (1994). Chronobiology of circulating blood cells and platelets. En: *Biologic Rhythms in Clinical and Laboratory Medicine*. Touitou, Y.; Hauss, E. (eds.) Springer-Verlag, Berlin, pp. 504-526.
- HAWK, H.W.; BITMAN, J.; CECIL, H.C.; WITBANK, J.N.; BOND, J.; SYKES, J.F. (1961). Effect of ovarian hormones on water and electrolytes in the cow uterus. *Am. J. Physiol.* 200: 345.
- HAYES, K.E.; PIERSON, R.A.; SCRABA, S.T.; GINTHER, O.J. (1985). Effects of estrous cycle and season on ultrasonic uterine anatomy in mares. *Theriogenology* 24(4): 465-477.
- HEDBERG Y.; DALIN A.M.; OHANGEN P.; HOLM K.R.; KINDAHL H. (2005). Effect of oestrus cycle stage on the response of mares in novel object test and isolation test. *Reprod. Domest. Anim.* 40(5): 480-488.
- HEDBERG, Y.; DALIN, A.M.; FORSBERG, M.; LUNDEHEIM, N.; HOFFMANN, B.; LUDWIG, C.; KINDAHL, H. (2007). Effect of ACTH (tetracosactide) on steroid hormone levels in the mare – Part A: effect in intact normal mares and mares with possible estrous related behavioral abnormalities. *Anim. Reprod. Sci.* 100: 73-91.
- HERNÁNDEZ, A.M. (2008). Caracterización hematológica e inmunofenotípica del caballo Pura Raza Española. Tesis Doctoral. Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad CEU-Cardenal Herrera, Moncada, Valencia.
- HERNÁNDEZ, A.M., SATUÉ K.; LORENTE, C.; GARCÉS, C. & O'CONNOR J.E. (2008). The influence of age and gender on haematological parameters in Spanish Horses. Proceeding of Veterinary European Equine Meeting XIV SIVE Congress, Venice (Italy), pp. 400-401.
- HERR, D.; DUNCAN, W.C.; HACK, G.; KONRAD, R.; KREIENBERG, R.; WULFF, C. (2010). Regulated expression of the renin-angiotensin-system in human granulosa lutein cells: angiotensin II increases VEGF expression but its synthesis is reduced by hCG. *Arch. Gynecol. Obstet.* 281(3): 409-416.
- HERR, D.; RODEWALD, M.; FRASER, H.M.; HACK, G.; KONRAD, R.; KREIENBERG, R.; WULFF, C. (2008). Regulation of endothelial proliferation by the renin-angiotensin system in human umbilical vein endothelial veins. *Reproduction* 136(1): 125-130.
- HILLIER, S.G. (2001). Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development. *Mol. Cell. Endocrinol.* 179: 39-46.
- HILLYER, M.H.; TAYLOR, F.G.R.; MAIR, T.S.; MURPHY, D.; WATSON, T.D.G.; LOVE, S. (1992). Diagnosis of hyperadrenocorticism in the horse. *Equine Vet. Educ.* 4: 131-134.
- HINCKLEY, K.A.; FEAM, S.; HOWARD, B.R.; HENDERSON, I.W. (1996). Nitric oxide donors as treatment for grass induced acute laminitis in ponies. *Equine Vet. J.* 28: 17-28.
- HIRSHOREN, N.; TZORAN, I.; MAKRIENKO, I.; EDOUTE, Y.; PLAWNER, M.M.; ITSKOVITZ-ELDOR, J.; JACOB, G. (2002). Menstrual cycle effects on the neurohumoral and autonomic nervous systems regulating the cardiovascular system. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87(4): 1569-1575.
- HOFFSIS, G.F.; MURDICK, P.; THARP, V.L.; AULT, K. (1970). Plasma concentrations of cortisol and corticosterone in the normal horse. *Am.J. Vet. Res.* 31(8): 1379-1387.
- HOHENHAUS, M.U.; BOSTEDT, H. (1992). Criteria for evaluating, clinically and sonographically, the development of follicles up to single or double ovulation intra oestrus in the mare. Proceeding of 12th International Congress on Animal Reproduction The Hague, Netherland, pp. 138-140.
- HOLLIS, A.R.; BOSTON, R.C.; CORLEY, T.T. (2008). Plasma aldosterone, vasopressin and atrial natriuretic peptide in hypovolaemia: a preliminary comparative study of neonatal and mature horses. *Equine Vet. J.* 40(1): 64-69.
- HONNENS, A.; WEISSER, S.; WELTER, H.; EINSPANIER, R.; BOLLWEIN, H. (2011). Relationships between uterine blood flow, peripheral sex steroids, expression of endometrial estrogen receptors and nitric oxide synthases during the estrous cycle in mares. *J. Reprod. Dev.* 57(1): 43-48.

- HOOD, D.M.; GROSENBAUGH, D.A.; MOSTAFA, M.B.; MORGAN, S.J.; THOMAS, B.C. (1993). The role of vascular mechanisms in the development of acute equine laminitis. *J. Vet. Intern. Med.* 7: 228-234.
- HOOPER, R.N.; TAYLOR, T.S.; VARNER, D.D.; BLANCHARD, T.L. (1993). Effects of bilateral ovariectomy via colpotomy in mares: 23 cases (1984-1990). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203(7): 1043-1046.
- HOWARD, R.B.; PUCELL, A.G.; BUMPUS, F.M.; HUSAIN, A. (1988). Rat ovarian renin: characterization and changes during the estrous cycle. *Endocrinology* 123(5): 2331-2340.
- HUGENTOBLER, S.A.; MORRIS, D.G.; SREENAN, J.M.; DISKIN, M.G. (2007). Ion concentrations in oviduct and uterine fluid and blood serum during the estrous cycle in the bovine. *Theriogenology* 68(4): 538-548.
- HUGENTOBLER, S.A.; SREENAN, J.M.; HUMPHERSON, P.G.; LEESE, H.J.; DISKIN, M.G.; MORRIS, D.G. (2010). Effects of changes in the concentration of systemic progesterone on ions, amino acids and energy substrates in cattle oviduct and uterine fluid and blood. *Reprod. Fertil. Dev.* 22(4): 684-694.
- HUGHES, I.A.; DYAS, J.; ROBINSON, J.; WALKER, R.F.; FAHMY, D.R. (1985). Monitoring treatment in congenital adrenal hyperplasia. Use of serial measurements of 17-OH-progesterone in plasma, capillary blood, and saliva. *Ann N Y Acad. Sci.* 458: 193-202.
- HURCOMBE, S.D.; TORIBIO, R.E.; SLOVIS, N.; KOHN, C.W.; REFSAL, K.; SAVILLE, W.; MUDGE, M.C. (2008). Blood arginine vasopressin, adrenocorticotropin hormone, and cortisol concentrations at admission in septic and critically ill foals and their association with survival. *J. Vet. Intern. Med.* 22(3): 639-647.
- HURLEY, M.E.; CRITELLI, M.; JOHNSON, A.; DENHAESE, J.; JONES, C.; OLIVIERI, M.P. (2009). Renin Immunofluorescence in the metestrus rat uterus. *FASEB J.* 25(9): 637-639.
- HURWITZ, S.; COHEN, R.; WILLIAMS, G.H. (2004). Diurnal variation of aldosterone and plasma renin activity: timing relation to melatonin and cortisol and consistency after prolonged bed rest. *J. Appl. Physiol.* 96: 1406-1414.
- HUSAIN, A.; BUMPUS, F.M.; DE SILVA, P.; SPETH, R.C. (1987). Localization of angiotensin II receptors in ovarian follicles and the identification of angiotensin II in rat ovaries. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 84: 2489-2493.
- IBARRA-RUBIO, M.E.; PEÑA, J.C.; PEDRAZA-CHAVERRI, J. (1989). Kinetic and inhibitory characteristics of serum angiotensin converting enzyme from nine mammalian species. *Comp. Biochem. Physiol.* 92: 399-403.
- ILLERA, J.C.; ILLERA, M.J.; SILVÁN, G.; ILLERA, M. (1993). Correlations between ultrasonography findings and hormonal profiles at oestrus in pure Spanish breed mares. *Aust. Vet. Assoc.* 70: 273-275.
- IRVINE, C.H.G.; ALEXANDER, S.L. (1993). Secretory patterns and rates of gonadotrophin-releasing hormone, follicle-stimulating hormone, and luteinizing hormone revealed by intensive sampling of pituitary venous blood in the luteal phase mare. *Endocrinology* 132: 212-218.
- IRVINE, C.H.G.; ALEXANDER, S.L. (1994). Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse. *Domest. Anim. Endocrinol.* 11: 227-238.
- IRVINE, C.H.G.; ALEXANDER, S.L.; MCKINNON, A.O. (2000). Reproductive hormone profiles in mares during the autumn transition as determined by collection of jugular blood at 6 h intervals throughout ovulatory and anovulatory cycles. *J. Reprod. Fertil.* 118: 101-109.
- IRVINE, C.H.G.; TURNER, J.E.; ALEXANDER, S.L.; SHAND, S.L.; NOORDT, S. (1998). Gonadotrophin profiles and dioestrous pulsatile release patterns in mares as determined by collection of jugular blood at 4 h intervals throughout an oestrous cycle. *J. Reprod. Fertil.* 113: 315-322.
- IVKOV, V.; IVANEV, N.; VESELINOVI, S.; GRUBA, S.; SNEANA V.; DOVENSKI, T.; MICKOVSKI, G.; KOCOSKI, L.; POPOVSKI, K. (1999). Ultrasonic measurement of follicles diameter in estrus of mares. Proceeding of the 7th Conference for Ovine and Caprine Production & 5th Symposium on Animal Reproduction, Macedonia.
- JAIN, N.C. (1986). The horse. Normal haematologic with comments on response to disease. En: Schalm's Veterinary Hematology. Jain N.C. (ed.) 4^a ed. Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 140-177.
- JAIN, N.C. (1993). Comparative hematology of common domestic animals. En: Essentials of Veterinary Hematology. Jain N.C. (ed.). 1^a ed. Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 19-53.
- JAMES, V.H.R.; HOMER, M.W.; MOSS, M.S.; RIPPON, A.E. (1970). Adrenocortical function in the horse. *J. Endocrinol.* 48: 319-335.
- JANOWSKY, D.S.; RAUSCH, J.L.; DAVIS, J.M. (2002). Historical studies of premenstrual tension up to 30 years ago: implications for future research. *Curr. Psychiatry Rep.* 4(6): 411-418.

- JANSSON, A.; JOHANISSON, A.; KVART, C. (2010). Plasma aldosterone concentration and cardiovascular response to low sodium intake in horses in training. Equine Vet. J. 42(38): 329-334.
- JANSSON, A.; LINDHOLM, A.; DAHLBORN, K. (2002). Effects of acute intravenous aldosterone administration on Na, K, and water excretion in the horse. J. Appl. Physiol. 92: 135-141.
- JARRY, H.; MEYER, B.; HOLZAPFEL, G.; HINNEY, B.; KUHN, W.; WUTTKE, W. (1988). Angiotensin II/III and substance P in human follicular fluid obtained during IVF: relation of the peptide content with follicular size. Acta Endocrinol. 119: 277-282.
- JAVAID, A.; HASAN, R.; NAIM, T. (2007). A comparative study of body weight, hemoglobin, concentration and hematocrit during follicular and luteal phases of menstrual cycle. J. Vet. Med. 7(1): 146-149.
- JENSEN, E.; WOOD, C.H.; KELLER-WOOD, M. (2002). The normal increase in adrenal secretion during pregnancy contributes to maternal volume expansion and fetal homeostasis. J. Soc. Gynaecol. Investig. 9(6): 362-371.
- JESPERSEN, C.M.; AMUNG, K.; HAGEN, C.; HILDEN, T.; NIELSEN, F.; NIELSEN, M.D.; GIESE, J. (1983). Effects of natural oestrogen therapy on blood pressure and renin-angiotensin system in normotensive and hypertensive menopausal women. J. Hypertens. 1: 361-364.
- JOHNSON, P.J. (2002). The equine metabolic syndrome peripheral Cushing's syndrome. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 16: 271-293.
- JOHNSON, P.J.; GOETZ, T.E.; FOREMAN, J.H.; VOGEL, R.S.; HOFFMANN, W.E.; BAKER, G.J. (1991). Effect of whole-body potassium depletion on plasma, erythrocyte, and middle gluteal muscle potassium concentration of healthy adult horses. Am. J. Vet. Res. 52(10): 1676-1683.
- KALANTARIDOU, S.N.; MAKRIGIANNAKIS, A.; ZOUMAKIS, E.; CHROUSOS, G.P. (2004). Stress and the female reproductive system. J. Reprod. Immunol. 62: 61-68
- KAPLAN, H.R.; COHEN, D.M.; ESSENBURG, A.D.; MAJOR, T.C.; MERTZ, T.E.; RYAN, M.H. (1984). New orally active nonsulphydryl angiotensin converting enzyme inhibitors. FASEB: Federation Proc. 43: 1326-1329.
- KASTNER, E.; FEIGE, M.; WEISHAUPT, M.; AUER, J. (1999). Heart rate and hematological responses of Quarter Horses to a reining competition. J. Equine Sci. 19: 127-131.
- KATO, H.; ISHIDA, J.; IMAGAWA, S.; SAITO, T.; SUZUKI, N.; MATSUOKA, T.; SUGAYA, T.; TANIMOTO, K.; YOKOO, T.; OHNEDA, O.; SUGIYAMA, F.; YAGAMI, K.; FUJITA, T.; YAMAMOTO, M.; NANGAKU, M.; FUKUMIZU, A. (2005). Enhanced erythropoiesis mediated by activation of the renin angiotensin system via angiotensin II type 1a receptor. FASEB J. 19: 2023-2025.
- KATUGAMPOLA, S.D.; DAVENPORT, A.P. (2002). Radioligand binding reveals chymase as the predominant enzyme for mediating tissue conversion of angiotensin I in the normal human heart. Clin. Sci. 102: 15-21.
- KATZ, F.H.; KAPPAS, A. (1967). The Effects of estradiol and estriol on plasma Levels of cortisol and thyroid hormone-binding globulins and on aldosterone and cortisol secretion rates in man. J. Clin. Invest. 46(11): 1768-1777.
- KATZ, F.H.; ROMFH, P. (1972). Plasma aldosterone and renin activity during the menstrual cycle. J. Clin. Endocr. 34: 819-822.
- KATZ, F.H.; ROMFH, P.; SMITH, P. (1975). Diurnal variation of plasma aldosterone, cortisol and renin activity in supine man. J. Endocrinol. Metab. 40: 125-134.
- KAULHAUSEN, H.; LEYENDECKER, G.; BENKER, G.; BREUER, H. (1978). The Relationship of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System to Plasma Gonadotropin, Prolactin, and Ovarian Steroid Patterns during the Menstrual Cycle. Arch. Gynäk. 225: 179-200.
- KEAM, S.; WAGSTRAFF, A. (2002). Ethinylestradiol /Drospirenone. A review of its use as an oral contraceptive. Treat. Endocrinol. 2(1): 1-23.
- KELLER-WOOD, M. (2000). Effects of a simulated estrous cycle on sodium, volume, ACTH, and AVP in sheep. Dom. Anim. Endocrinol. 18(1): 31-40.
- KELLEY, D. (2009). The effect of moderate exercise on folliculogenesis, cortisol, estradiol and luteinizing hormone in mare. Doctoral Thesis. School of Clemson University.
- KEM, D.C.; GOMEZ-SANCHEZ, C.; KRAMER, N.J.; HOLLAND, O.B.; HIGGINS, J.R. (1975). Plasma aldosterone and renin activity response to ACTH infusion in dexamethasone-suppressed normal and sodium-depleted man. J. Clin. Endocrinol. Metab. 40(1): 116-124.

- KENNY, H.A.; WOODRUFF, T.K. (2006). Follicle size class contributes to distinct secretion patterns of inhibin isoforms during the rat estrous cycle. Endocrinology 147(1): 51-60.
- KERR, M.G.; SNOW, D.H. (1982). Alterations in haematocrit, plasma proteins and electrolytes in horses following the feeding of hay. Vet. Rec. 110: 538-540.
- KING, A.E.; CRITCHLEY, H.O. (2010). Oestrogen and progesterone regulation of inflammatory processes in the human endometrium. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 120: 116-126.
- KINSLOW, P.; HARRIS, P.; GRAY, J.; ALLEN, W.R. (1995). Influence of the oestrus cycle on electrolyte excretion in the mare. Equine Vet. J. 18: 388-391.
- KLETT C, HACKENTHAL E. (1987). Induction of angiotensinogen synthesis and secretion by angiotensin II. Clin. Exp. Hypertens. A. 9(12): 2027-2047.
- KNILL, L.M.; MCCONAUGHY, C; CAMARENA, I.; DAY, M. (1969). Hemogram of the arabian horse. Am. J. Vet. Res. 2(30): 295-298.
- KOMUKAIA, K.; MOCHIZUKIB, S.; YOSHIMURA, M. (2010). Gender and the renin-angiotensin-aldosterone system. Fund. Clin. Pharmacol. 24: 687-698.
- KOSKINEN, E.; KUNTSI, H.; LINDEBERG, H.; KATILA, T. (1989). Predicting ovulation in the mare on the basis of follicular growth and serum oestrone sulphate and progesterone levels. Zentralbl Vet. A. 36(4): 299-304.
- KOSKINEN, E.; LINDERBERG, H.; KUNTSI, H.; RUOTSALAINEN, L.; KATILA, T. (1990). Fertility of mares after postovulatory insemination. J. Vet. Med. A. 37: 77-80.
- KOTANI, E.; SUGIMOTO, M.; KAMATA, H.; FUJII, N.; SAITOH, M.; USUKI, S.; KUBO, Y.; SONG, K.; MIYAZAKI, M.; MURAKAMI, K.; MIYAZAKI, H. (1999). Biological roles of angiotensin II via its type 2 receptor during rat follicle atresia. Am. J. Physiol. 276(1-1): 25-33.
- KRAJNICÁKOVÁ, M.; BEKEOVÁ, E.; HENDRICHOVSKÝ, V.; MARACEK, I. (1993). Dynamics of changes in the cytological picture of vaginal smears and circulating ovarian hormones during the puerperal period in ewes. Vet. Med. (Praha) 37(8): 449-458.
- KRAJNICÁKOVÁ, M.; BEKEOVÁ, E.; MARACEK, I.; HENDRICHOVSKÝ, V. (1994). Levels of sodium and potassium and their relation to ovarian hormones during estrus synchronization and pregnancy in ewes. Vet. Med. (Praha) 39(9): 541-550.
- KRAJNICÁKOVÁ, M.; BEKEOVÁ, E.; MARACEK, I.; HENDRICHOVSKÝ, V. (1995). Dynamic changes in hematologic parameters in the blood of sheep during estrus synchronization and in the subsequent early pregnancy. Vet. Med. (Praha) 40(6): 177-180.
- KRISHNAMURTHI, K.; VERBALIS, J.G.; ZHENG, W.; WU, Z.; CLERCH, L.B.; SANDBERG, K. (1999). Estrogen regulates angiotensin AT1 receptor expression via cytosolic proteins that bind to the 5' leader sequence of the receptor mRNA. Endocrinology 140: 5431-5434.
- KUMAR, R.; SINGH, V.P.; BAKER, K.M. (2008). The intracellular renin-angiotensin system: implications in cardiovascular remodeling. Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. 17: 168-173.
- KUROSAWA, M.; NAGATA, S.; TAKEDA, F.; MIMA, K.; HIRAGA, A.; KAI, M Y TAYA, K. (1998). Plasma catecholamine, adrenocorticotropin and cortisol responses to exhaustive incremental treadmill exercise of the thoroughbred horse. J. Equine Sci. 9(1): 9-18.
- KUROSKI DE BOLD, M.L. (1999). Estrogen, natriuretic peptides and the renin-angiotensin system. Cardiovasc. Res. 41: 524-531.
- LANDAU RL, LUGIBIHL K (1958). Inhibition of the sodium-retaining influence of aldosterone by progesterone. J. Clin. Endocrinol. Metab. 18: 1237-1245.
- LANDAU, R.L.; LUGIBIHL, K. (1961). The catabolic and natriuretic effects of progesterone in man. Recent Prog. Horm. Res. 17: 249-292.
- LANJE, M.A.; BHUTEY, A.K.; KULKAMI, S.R.; DHAWIE, U.P.; SANDE, A.S. (2010). Serum electrolytes during different phases of menstrual cycle. IJPSR 1(10): 435-437.
- LASSEN, E.D., SWARDSON, C.J. (1995). Hematology and hemostasis in the horse: normal functions and common abnormalities. Vet. Clinics North Am. Equine Pract. 11: 351-389.

- LASSOURD, V.; GAYRARD, V.; LAROUTE, M.; ALVINEIRE, P.; BENARD, D.; TOUTAIN, P.L. (1996). Cortisol disposition and production rate in horses during rest and exercise. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Com. Physiol. 271: 25-33.
- LATIMER, K.S.; RAKICH, P.M. (1992). Peripheral blood smears. En: *Cytology and Hematology of the Horse*. Cowell, R.L.; Tyler, R.D. (eds.) American Veterinary Publications, Inc. Goleta, California, pp. 191-235.
- LE GALL, S.; FERAL, C.; LEYMARIE, P. (1993). Renin-angiotensin system of the uterus and ovary in mammalian females. Reprod. Nutr. Dev. 33(3): 185-198.
- LEE, H.Y.; ACOSTA, T.J.; TANIKAWA, W.A.; SAKUMOTO, R.; KOMIYAMA, J.; TASAKI, Y.; PISKULA, M.; SKARZYNSKI, D.J.; TETSUKA, M.; OKUDA, K. (2007). The role of glucocorticoid in the regulation of prostaglandin biosynthesis in non-pregnant bovine endometrium. Endocrinology 193(1): 127-135.
- LEROY, J.L.M.; VANHOLDER, R.T.; DALANGHE, J.R.; OPSOMER, G.; VAN SOOM, P.; BOLLS, E.J.; DE KRUIF, A. (2004). Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows. Anim. Reprod. Sci. 80(3-4): 201-211.
- LESHNER, A.I.; TOIVOLA, P.T.K.; TERASAWA, E. (1978). Circadian variations in cortisol concentrations in the plasma of female rhesus monkeys. J. Endocrinol. 78: 155-156.
- LEVENS, N. (1985). Control of intestinal absorption by the renin angiotensin system. Am. J. Physiol. 249: 3-15.
- LI, Y.H.; JIAO, L.H.; LIU, R.H.; CHEN, X.L.; WANG, H.; WANG, W.H. (2004). Localization of angiotensin II in pig ovary and its effects on oocyte maturation in vitro. Theriogenology 61: 447-459.
- LIGHTMAN, A.; TARLATZIS, B.C.; RZASA, P.J.; CULLER, M.D.; CARIDE, V.J.; NEGRO-VILAR, A.F.; LENNARD, D.; DECHEMEY, A.H.; NAFTOLIN, F. (1987). The ovarian renin-angiotensin system: renin-like activity and angiotensin II/III immunoreactivity in gonadotropin-stimulated and unstimulated human follicular fluid. Am. J. Obstet. Gynecol. 156: 808-816.
- LINDBERG, H.; KUNTSI-VAATTOVAARA, H.; KATILA, T. (1992). Predicting ovulation in the mare. Proceeding of 12th International Congress on Animal Reproduction The Hague, The Netherlands, pp. 144-146.
- LINDNER, A.; WILL, Y.; CHRISPPEELS, J. (1990). Reference values for cortisol, T4 and T uptake in different horse groups using the fluorescence polarization immunoassay (FPIAs). Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 103(12): 411-416.
- LINDPAINNER, K.; JIN, M.; WILHEM, M.; SUZUKI, F.; LINZ, W.; SCHOELKENS, B.; GANTEN, D. (1988). Intracardiac generation of angiotensin and its physiological role. Circulation 77(1): 18-23.
- LORDING, P.M. (2008). Erythrocytes. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 24(2): 225-237.
- LORET DE MOLA, J.R.; GOLDFARB, J.M.; HECHT, B.R.; BABBO, C.J.; FRIEDLANDER, M.A. (1999). Gonadotropins induce higher active renin levels in the follicular fluid of normal and hyperstimulated cycles. Gynecol. Endocrinol. 13: 155-160.
- LOVE, S. (1993). Equine Cushing's disease. Br. Vet. J. 149(2): 139-153.
- LUBAS, G.; CASINI, L.; GREPPI, G.F.; GAVAZZA, A. (1996). Investigation on circadian rhythm of hemogram values in horses. Ippologia, 6(2): 23-33.
- LUCIANI, A.; CIVITELLA, C.; SANTORI, D.; SCONZA, S.; GUGLIELMINI, C. (2007). Haemodynamic effects in healthy horses treated with an ACE-inhibitor (Ramipril). Vet. Res. Commun. 31(1): 297-299.
- LUMSDEN, J.H.; ROWE, R.; MULLEN, K. (1980). Hematology and biochemistry reference values for the light horse. Can. J. Comp. Med. 44(1): 32-42.
- MAGNESS, R. R.; (1993). Renin-angiotensin system and uterine vascular function. En: *Local Systems in Reproduction*. Magness, P.R.; Naftolin, F. (eds.). Symposia Publications, Raven Press, New York, pp. 237-262.
- MAGNESS, R.R.; PARKER, C.R.; ROSENFELD, C.R. (1993). Systemic and uterine responses to chronic infusion of estradiol-17 beta. Am. J. Endocrinol. Metabol. 265(5): 690-698.
- MAGNESS, R.R.; ROSENFELD, C.R. (1989). Local and systemic estradiol-17 beta: effects on uterine and systemic vasodilation. Am. J. Physiol. 256(4-1): 536-542.
- MANSO, M.; AGUILERA, E.; ESTEPA, J.C.; MARTINEZ, J.; MAYER, R. (1998). Valores hematológicos en yeguas puerperales y potros neonatos Pura Raza Española y Árabe. Med. Vet. 15(6): 353-355.

- MARTIN, P.A.; CRUMP, M.H. (2003). The adrenal gland. En: McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction. Pineda, M.H.; Dooley, M.P. (eds.) 5^a ed. Ames, IA. Iowa State Press, pp. 165-200.
- MARUNAKA, Y. (1997). Hormonal and osmotic regulation of NaCl transport in renal distal nephron epithelium. Jpn. J. Physiol. 47(6): 499-511.
- MASON, D.K.; KWOK, H.W. (1977). Some haematological and biochemical parameters in race horses in Hong Kong. Equine Vet. J. 9(2): 96-99.
- MCCAFFREY, T.A.; CZAJA, J.A. (1989). Diverse effects of estradiol-17 beta: concurrent suppression of appetite, blood pressure and vascular reactivity in conscious, unrestrained animals. Physiol. Behav. 45(3): 649-657.
- MCCONAGHY, F. (1994). Thermoregulation. En: The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine. Hodgson, D.R.; Rose, R.J. (eds.) WB Saunders Co, Philadelphia, USA, pp. 181-204.
- MCCONAGHY, F.F.; HODGSON, D.R.; EVANS, D.L.; ROSE, R.J. (1995). Equine sweat composition: effects of adrenaline infusion, exercise and training. Equine Vet. J. Suppl. 20: 158-164.
- MCCORMICK, C.M.; TEILLON, S.M. (2001). Menstrual cycle variation in spatial ability: relation to salivary cortisol levels. Horm. Behav. 39(1): 29-38.
- MCCUTCHEON, J.; IRVINE, A.; DERIAS, N.W. (1995). Metastatic liposarcoma in the adrenal gland: report of two cases diagnosed by fine-needle aspiration. Diagn. Cytopathol. 13(4): 330-332.
- MCCUTCHEON, L.J.; GEOR, R.J. (1998). Fluid and ion losses and replacement. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 14: 75-95.
- MCFARLANE, D.; SELLON, D.; GIBBS, S. (2001). Age related quantitative alterations in lymphocyte subsets and immunoglobulin isotypes in healthy horses. Am. J. Vet. Res. 62(9): 1413-1417.
- MCFARLANE, D.; SELLON, D.C.; GAFFNEY, D.; HEDGPETH, V.; PAPICH, M.; GIBBS, S. (1998). Hematologic and serum biochemical variables and plasma corticotropin concentration in healthy aged horses. Am. J. Vet. Res. 59: 1247-1251.
- MCKEEVER, K.H. (2011). Endocrine alterations in the equine athlete: an update. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 27(1): 197-218.
- MCKEEVER, K.H.; GORDON, M.B. (2004). Endocrine alterations in the equine athlete. En: Equine Sports Medicine and Surgery. Basic and clinical sciences of the equine athlete. Hinchcliff, K.W.; Kaneps, A.J.; Geor, R.J. (eds.) WB Saunders Co, Philadelphia, USA, pp. 798-814.
- MCKEEVER, K.H.; HINCHCLIFF, K.W.; SCHMALL, L.M.; REED, S.M.; LAMB, D.R.; MUIR III, W. (1992). Changes in plasma renin activity, aldosterone, and vasopressin during incremental exercise in horses. Am. J. Vet. Res. 53: 1290-1293.
- MCKEEVER, K.H.; MALINOWSKI, K. (1999). Endocrine response to exercise in young and old horses. Equine Vet. J. Suppl. 30: 561-566.
- MCKEEVER, K.H. (2002). The endocrine system and the challenge of exercise. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 18: 321-353.
- MCKEEVER, K.H.; HINCHCLIFF, K.W. (1995). Neuroendocrine control of blood volume, blood pressure, and cardiovascular function in horses. Equine Vet. J. 18: 77-81.
- MCKENNA, B.; LAMBERT, M.; EVANS, J.A. (1993). A study of β -endorphin and cortisol levels in the exercising horse. Proceeding of the 12th Annual Meeting Equine Sport Medicine, pp. 39-43.
- MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; CARNEVALE, E.M.; HARRISON, L.A.; FRANTZ, D.D.; MCCHESENEY, A.E.; SHIDELES, R.K. (1987). Diagnostic ultrasonography of uterine pathology in the mare. Proceeding of 33rd Annual Convention of American Association of Equine Practice, pp. 605-622.
- MCMEEN, S.L. (2002). Follicular growth and development and gonadotropin response of mares treated with dihydrotestosterone and estradiol benzoate. Thesis of Master of Science. Louisiana State University.
- MCMULLIN, M.F.; WHITE, R.; LAPPIN, T.; REEVES, J.; MACKENZIE, G. (2003). Haemoglobin during pregnancy: relationship to erythropoietin and haematocrit. Eur. J. Haematol. 71: 44-50.
- MEDAN, M.S.; NAMBO, Y.; NAGAMINE, N.; SHINBO, H.; WATANABE, G.; GROOME, N.; TAYA, K. (2004). Plasma concentrations of Ir-inhibin, inhibin A, inhibin pro- α C, FSH, and estradiol-17 β during estrous cycle in mares and their relationship with follicular growth. Endocrine 25(1): 7-14.

- MEDICA, P.; GIACOPPO, E.; FAZIO, E.; AVENI, F.; PELLIZZOTTO, R.; FERLAZZO, A. (2010). Cortisol and haematochemical variables of horses during a two day trekking event: effects of preliminary transport. Equine Vet. J. **42(38)**: 167-170.
- MEINECK, B.; GIPS, H.; MEINECKE-TILLMAN, S. (1987). Progesterone, androgen, and oestrogen levels in plasma and ovarian follicular fluid during the oestrous cycle of the mare. Anim. Reprod. Sci. **12**: 255-265.
- MELIANI, S.; BENALLOU, M.; HALBOUCHE, A.; NIAR, A.; NACERI, A. (2011). Serum macrominerals, glucose and triglycerides in Arabian mares during different phases of reproduction cycle. Pak. Vet. J. **31(4)**: 291-294.
- MENDELSON, M.; KARAS, R. (1999). The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. New Engl. J. Med. **340**: 1801-1811.
- MERL, S.; SCHERZER, S.; PALME, R.; MÖSTL, E. (2000). Pain causes increased concentrations of glucocorticoid metabolites in horse feces. J. Equine Vet. Sci. **20(9)**: 586-590.
- MESSER, N.T. (1995). The use of laboratory test in equine practice. Vet. Clinics North Am. Equine Pract. **11**: 345-350.
- MEYER, H. (1987). Nutrition of the equine athlete. En: Equine Exercise Physiology 2, 1st ed. ICEEP Publications, Davis, CA, pp. 644-673.
- MEYER, H.; COENEN, M. (2002) Pferdefütterung. 4^a ed. Parey Buchverlag, Berlin, Germany, pp. 8.
- MICHAUX, J.M.; GIRAUD, C.; FRANCOIS, B.; DEMONCEAU, T. (1987). Interet de la mesure de l'aldosteronemie dans l'exploration de l'equilibre hydro-electrolyte du cheval. Quoi de neuf en matiere d'études et de recherches sur le cheval ? CEREOPA, Paris (Francia), pp. 122-124.
- MICHELAKIS, A.M.; YOSHIDA, H.; DORMOIS, J.C. (1975). Plasma rennin activity and plasma aldosterone during the normal menstrual cycle. Am. J. Obstet. Gynecol. **123(7)**: 724-726.
- MICHELL, A. R. (1979). The influence of the oestrous cycle on electrolyte excretion in sheep. J. Exp. Physiol. **64**: 77-85.
- MICHELL, A.R.; NOAKES, D.E. (1985). Effect of oestrogen and progesterone on sodium, potassium and water balance in sheep. Res. Vet. Sci. **38(1)**:46-53,
- MILLER, J.A.; ANACTA, L.A.; CATTRAN, D.C. (1999). Impact of gender on the renal response to angiotensin II. Kidney Int. **55(1)**: 278-285.
- MILLER, V.M.; DUCKLES, S.P. (2008). Vascular Actions of Estrogens: Functional Implications. Pharmacol. Rev., **60**: 210-241.
- MIRA, M.; STEWART, P.M.; GEBSKI, V.; LLEWELLYN-JONES, D.; ABRAHAM, S.F. (1984). Changes in sodium and uric acid concentrations in plasma during the menstrual cycle. Clin. Chem. **30(3)**: 380-381.
- MITSUBE, K.; MIKUNI, M.; MATOUSEK, M.; ZACKRISSON, U.; BRANNSTROM, M. (2003). Role of the angiotensin II system in regulation of ovulation and blood flow in the rat ovary. Reproduction **125(3)**: 425-435.
- MONTAVON, S. (1994). Ultrasonography of the formation and development of the corpus luteum in the mare: review for the practitioner. Schweiz. Arch. Tierheilkd. **136(3)**: 91-94.
- MORGAN, L.; BROUGHTON-PIPKIN, F.; KALSHEKER, N. (1996). DNA polymorphisms and linkage disequilibrium in the angiotensinogen gene. Hum. Genet. **98**:194-198
- MORRIS, D.D. (1990). Alterations in the erythron. En: Large Animal Internal Medicine. Smith, B.P. (ed.) St. Louis. The C.V. Mosby Company, pp. 418-424.
- MORRIS, D.D.; STRZEMIENSKI, P.J.; GAULIN, G.; SPENCER, P. (1988). The effects of corticosteroid administration on the migration, phagocytosis and bactericidal capacity of equine neutrophils. Cornell Vet. **78(3)**: 243-252.
- MORTENSEN, C.J.; CHI, Y.H.; HINRCHS, K.; KRAEMER, D.C.; VOGELSANG, S.G.; VOGELSANG, M.M. (2009). Embryo Recovery from Exercised Mares. Anim. Reprod. Sci. **110(3-4)**: 237-244
- MRUG, M.; STOPKA, T.; JULIAN, B.A.; PRCHAL, J.F.; PRCHAL, J.T. (1997). Angiotensin II stimulates proliferation of normal early erythroid progenitors. J. Clin. Invest. **100**: 2310-2314.
- MSHELIA, G.D.; AMIN, J.D.; CHAUDHARI, S.U.R. (2005). Haemogram of Nigerian mongrel bitch at different stages of the reproductive cycle. Pakistan Vet. J. **25(1)**: 22-24.

- MUKHOPADHYAY, A.K.; BRUNSWING-SPICKENHEIER, B. (1996). Follicular maturation and atresia—possible role of intraovarian regulatory factors. J. Reprod. Fertil. Suppl. 50: 105-112.
- MUKHOPADHYAY, A.K.; HOLSTEIN, K.; SZKUDLINSKI, M.; BRUNSWIG-SPICKENHEIER, B.; LEIDENBERGER, F.A. (1991). The relationship between prorenin levels in follicular fluid and follicular atresia in bovine ovaries. Endocrinology 129(5): 2367-2375.
- MUÑOZ, A.; RIBER, C.; TRIGO, P.; CASTEJON, F.M. (2010, a). Clinical Applications of the Renin-Angiotensin-Aldosterone-Vasopressin Axis in the Horse and Future Directions for Research. J. Equine Vet. Sci. 30(11): 607-616.
- MUÑOZ, A.; RIBER, C.; TRIGO, P.; CASTEJON, F.M. (2010, c). Muscle damage, hydration, electrolyte balance and vasopressin concentrations in successful and exhausted endurance horses. Polish J. Vet. Sci. 13(2): 373-379.
- MUÑOZ, A.; RIBER, C.; TRIGO, P.; CASTEJON, F.M. (2012). Age- and gender-related variations in hematology, clinical biochemistry and hormones in Spanish fillies and colts. Res. Vet. Sci. (En prensa).
- MUÑOZ, A.; RIBER, C.; TRIGO, P.; CASTEJON-RIBER, C.; CASTEJÓN, F.M. (2010, b). Dehydration, electrolyte imbalances and renin-angiotensin-aldosterone-vasopressin axis in successful and unsuccessful endurance horses. Equine Vet. J. 42(38): 83-90.
- MUÑOZ, A.; RIBER, C.; TRIGO, P.; REQUENA, F.; CASTEJÓN, F. (2007). Concentraciones séricas de aldosterona en caballos de resistencia con diferente rendimiento deportivo. RECVET 2(8). <http://www.veterinaria.org/revistas/recvet>.
- MUÑOZ, A.; TRIGO, P.; SATUÉ, K. (2006). Perfiles hematológicos y bioquímicos aplicados al caballo de deporte: cambios con el ejercicio y el entrenamiento. Equinus 14: 39-51.
- MYLES, K.; FUNDER, J.W. (1996). Progesterone binding to mineralocorticoid receptors: in vitro and in vivo studies. Am. J. Physiol. 270(4): 601-607.
- NAGATA, S.; TAJEDA, F.; KUROSAWA, M.; MIMA, K.; HIRAGA, A.; KAI, M.; TAYA, K. (1999). Plasma adrenocorticotropin, cortisol and catecholamines response to various exercises. Equine Vet. J. Suppl. 30: 570-574.
- NAGY, P.; HUSZENICZA, G.; REICZIGEL, J.; JUHÁSZ, J.; KULCSÁR, M.; ABAVÁRY, K.; GUILLAUME, D. (2004). Factors affecting plasma progesterone concentration and the retrospective determination of time of ovulation in cyclic mares. Theriogenology 61(2-3): 203-214.
- NAHEED, S (2004). Determination of some serum biochemical constituents of mares during three phases of reproductive cycle. MSc Thesis, Dept Anim Reprod Univ Agri, Faisalabad, Pakistan.
- NAKAMURA, T.; OKAMURA, N.; YAGI, M.; OMATSU, H.; YAMAMORI, M.; KUWAHARA, A.; NISHIGUCHI, K.; HORINOUCHE, M.; OKUMURA, K.; SAKAEDA, T. (2009). Effects of ABCB1 3435C>T genotype on serum levels of cortisol and aldosterone in women with normal menstrual cycles. Genet. Mol. Res. 8(2): 397-403.
- NAMBO, Y.; OIKAWA, M.; YOSHIKAWA, T.; KUWANO, A.; HOBO, S.; NAGATA, S.; WATANABE, G.; TAYA (1996). Effects of transport stress on concentration of LH and FSH in plasma of mares: a preliminary study. J. Equine Sci. 7: 1-5.
- NATHANIELSZ, P.W.; ROSSDALE, P.D.; SILVER, M.; COMLINE, R.S. (1975). Studies on fetal, neonatal and maternal cortisol metabolism in the mare. J. Reprod. Fertil. Suppl. 23: 625-630.
- NEELY, D.; LIUS, I.; HILLMAN, R. (1989). Reproducción Equine. Editorial agropecuaria Hemisferio Sur, S.R.L., Montevideo. Uruguay.
- NELSON, R.J. (2000). Stress. En: An Introduction to Behavioral Endocrinology. Nelson, R.J. (ed.). 2ª ed. Massachusetts, Sinauer Associates, pp. 557-591.
- NEPOMNASCHY, P.A.; ALTMAN, R.M.; WATTERSON, R.; CO, C.; MCCONNELL, D.S.; ENGLAND, B.G. (2011). Is cortisol excretion independent of menstrual cycle day? A longitudinal evaluation of first morning urinary specimens. PLoS One 6(3): art n° 18242.
- NEWCOMBE, J.R. (1994). A comparison of ovarian follicular diameter in Thoroughbred mares between Australia and the UK. J. Equine Vet. Sci. 14: 653-654.
- NICKENIG, G.; BAUMER, A.T.; GROHE, C.; KAHLERT, S.; STREHLOW, K.; ROSENKRANZ, S.; STABLEIN, A.; BECKERS, F.; SMITS, J.F.; DAEMEN, M.J.; VETTER, H.; BOHM, M. (1998). Estrogen modulates AT1 receptor gene expression in vitro and in vivo. Circulation 97(22): 2197-2201.
- NIELSEN AH, GOTFREDSEN P, NIELSEN PB, HYTTEL P, POULSEN K. (1991). Measurement of renin and prorenin in cattle, hog and horse. Comp. Biochem. Physiol. A. Comp. Physiol. 100(1): 127-131.

- NIELSEN, A.H.; SCHAUSER, K.H.; POULSEN, K. (2000). Current topic: the uteroplacental renin angiotensin system. Placenta 21: 468-477.
- NODEN, P.A.; OXENDER, W.D. (1975). LH and ovulation after Gn-RH in mares. Anim. Sci. 42: 1360.
- NOWACZYNSKI, W.; MURAKAMI, T.; RICHARDSON, K.; GENEST, J. (1978). Increased aldosterone plasma protein binding in women on combined oral contraceptives throughout the menstrual cycle. J. Clin. Endocrinol. Metab. 47(1): 193-199.
- NOWACZYNSKI, W.; KOIW, E.; BIRON, P.; CHRETIEN, M.; GENEST, J. (1962). Effects of angiotensin infusions on urinary excretion of compound III and substances other than aldosterone. Can. J. Biochem. Physiol. 40: 727-738.
- O'CONNOR, S.J.; FOWDEN, A.L.; HOLDSTOCK, N.; GIUSSANI, D.A.; FORHEAD, A.J. (2002). Developmental changes in pulmonary and renal angiotensin converting enzyme concentration in fetal and neonatal horses. Reprod. Fertil. Dev. 14(7-8): 413-417.
- O'CONNOR, S.J.; OUSEY, J.C.; GARDNER, D.S.; FOWDEN, A.L.; GIUSSANI, D.A. (2006). Development of baroflex function and hind limb vascular reactivity in the horse fetus. J. Physiol. 572: 155-164.
- O'MAHONY, O.A.; DJAHANBAHKCH, O.; MAHMOOD, T.; PUDDEFOOT, J.R.; VINSON, G.P. (2000). Angiotensin II in human seminal fluid. Hum. Reprod. 15(6): 1345-1349.
- OELKERS, W. (1996). Effects of estrogens and progestogens on the rennin-aldosterone system and blood pressure. Steroids 61 (4): 166-171.
- OELKERS, W. (2002). The renin-aldosterone system and drospirenone. Gynecol. Endocrinol. 16(1): 83-87.
- OELKERS, W.; BERGER, V.; BOLIK, A.; BAHR, V.; HAZARD, B.; BEIER, S.; ELGER, W.; HEITHECKER, A. (1991). Dihydrospirorenone, a new progestogen with antimineralocorticoid activity: effects on ovulation, electrolyte excretion, and the renin-aldosterone system in normal women. J. Clin. Endocrinol. Metab. 73(4): 837-842.
- OELKERS, W.; SCHONESHOFER, M.; BLUMEL, A. (1974). Effects of progesterone and four synthetic progestagens on sodium balance and the renin-aldosterone system in man. J. Clin. Endocrinol. Metab. 39(5): 882-890.
- OJEDA, N.; GRIGORE, D.; ROBERTSON, E.; ALEXANDER, B. (2007). Estrogen protects against increased blood pressure in postpubertal female growth restricted offspring. Hypertension 50: 679-685.
- ORSHAL, J.M.; KHALIL, R.A. (2004). Gender, sex hormones, and vascular tone. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 286: 233-249.
- OTTE, M.; SPIER, A. (2009). The renin-angiotensin-aldosterone system: approaches to cardiac and renal therapy. Compend. Contin. Educ. Vet. 31(1): 1-7.
- OUNIS-SKALI, N.; MITCHELL, G.F.; SOLOMON, C.G.; SOLOMON, S.D.; SEELY, E.W. (2006). Changes in Central Arterial pressure Waveforms during the Normal Menstrual Cycle. J. Invest. Med. 54(6): 321-326.
- PADIA, S.H.; KEMP, B.A.; HOWELL, N.L.; FOURNIE-ZALUSKI, M.C.; ROQUES, B.P.; CAREY, R.M. (2008). Conversion of renal angiotensin II to angiotensin III is critical for AT2 receptor-mediated natriuresis in rats. Hypertension 51(2): 460-465.
- PAGAN, J.D.; HARRIS, P.A. (1999). The effects of timing and amount of forage and grain on exercise response in thoroughbred horses. Equine Vet. J. Suppl. 30: 451-457.
- PALMER, E. (1987). New results on follicular growth and ovulation in the mare. En: Follicular growth and ovulation rate in farm animals. Roche, J.F.; O'Callaghan, D. (eds.). Martinus Nijhoff Publishers, New York, pp. 237-255.
- PALMER, E.; DRIANCOURT, M.A. (1980). Use of ultrasonic echography in equine gynecology. Theriogenology 13: 203-216.
- PANTKE, P.; HYLAND, J.; GALLOWAY, D.B.; McLEAN, A.A.; HOPPEN, H.O. (1991). Changes in luteinizing hormone bioactivity associated with gonadotrophin pulses in the cycling mare. J. Reprod. Fertil. Suppl. 44: 13-18.
- PARRY, B.L.; JAVEED, S.; LAUGHLIN, G.A.; HAUGER, R.; CLOPTON, P. (2000). Cortisol circadian rhythms during the menstrual cycle and with sleep deprivation in premenstrual dysphoric disorder and normal control subjects. Biol. Psychiatry. 48(9): 920-931.
- PARRY, B.W.; BROBST, D.F. (1997). Normal clinical pathological data. En: Current Therapy in Equine Medicine. Robinson, N.W. (ed.). 4^a ed. Robinson, Saunders Company: Philadelphia, pp. 761-772.

- PATTISON, M.L.; CHEN, C.L.; KELLEY, S.T.; BRANDT, G.W. (1974). Luteinizing hormone and estradiol in peripheral blood of mares during estrous cycle. Biol. Reprod. 11: 245-250.
- PEAKER, M.; ROSSDALE, P.D.; FORSYTH, I.A.; FAK, M. (1979). Changes in mammary development and composition of secretions during late pregnancy in the mare. J. Reprod. Fertil. Suppl. 27: 555-561.
- PECHERE-BERTSCHI, A.; MAILLARD, M.; STALDER, H.; BRUNNER, H.; BURNIER, M. (2002). Renal segmental tubular response to salt during the normal menstrual cycle. Kidney Int. 61: 425-431.
- PEHLIVANOGLU, B.; DIKMENOGLU, N.; BALKANCI, D.Z. (2007). Effect of stress on erythrocyte deformability, influence of gender and menstrual cycle. Clin. Hemorheol. Microcirc. 37(4): 301-308.
- PEREIRA, H.J.; SOUZA, L.L.; SALGADO, M.C.; OLIVEIRA, E.B. (2008). Angiotensin processing is partially carried out by carboxypeptidases in the rat mesenteric arterial bed perfusate. Regul. Pept. 151(1-3): 135-138.
- PEREIRA, V.M.; REIS, F.M.; SANTOS, R.A.; CASSALI, G.D.; SANTOS, S.H.; HONORATO-SAMPAIO, K.; DOS REIS, A.M. (2009). Gonadotropin stimulation increases the expresión of angiotensin (1-7) and MAS receptor in the rat ovary. Reprod. Sci. 16(12): 1165-1174.
- PERSSON, S.B.G.; EKMAN, L.; LYDIN, G. (1973). Circulatory effects of splenectomy in the horse. I. Effect on the red cell distribution and variability of haematocrit in the peripheral blood. Zentralbl. Vet. Med. A. 20: 441-455.
- PERSSON, S.G.; LARSSON, M.; LINDHOLM, A. (1980). Effects of training on adreno-cortical function and red-cell volume in trotters. Zentralbl. Veterinarmed. A. 27(4): 261-268.
- PERSSON, S.G.B. (1967). On blood volume and working capacity in horses. Acta Physiol. Scand., Suppl. 19: 1-189.
- PERSSON, S.G.B. (1968). Blood volume, state of training and working capacity of race horses. Equine Vet. J. 52-62.
- PERSSON, S.G.B. (1997). Heart rate and blood lactate responses to submaximal treadmill exercise in the normally performing Standardbred trotter: age and sex variations and predicibility from the total red cell blood volume. J. Vet. Med. Assoc. 44: 125-132.
- PICCIONE, G.; ARCIGLI, A.; ASSENZA, A.; CAOLA, G. (2001). Variaciones circadianas de algunos parámetros fisiológicos en respuesta al entrenamiento en el caballo de competición. Med. Vet. 18: 607-614.
- PICCIONE, G.; CAOLA, G.; REFINETTI, R. (2003). Thermal chronobiology of domestic animals. Front. Biosci. 1(8): 258-264.
- PICCIONE, G.; CASELLA, S.; MONTEVERDE, V.; GIANNETTO, V.; CAOLA, G. (2008). Haematological modifications during official 1600 and 200 meters trot races in standardbred horses. Acta Vet. (Beograd) 58: 325-332.
- PICCIONE, G.; GIANNETTO, C.; FAZIO, F.; DI MAURO, S.; CAOLA, G. (2007). Haematological response to different workload in jumper horses. Bulg. J. Vet. Med. 10(4): 21-28.
- PIERSON, R.A. (1993). Folliculogenesis and ovulation. En: Equine Reproduction. McKinnon, A.; Voss, J. (eds.). Williams & Wilkins, Media, PA, pp. 161.
- PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. (1985). Ultrasonic evaluation of the corpus luteum of the mare. Theriogenology 23: 795-806.
- PINTO, C.R.; PACCAMONTI, D.L.; EILTS, B.E.; SHORT, C.R.; GODKE, R.A. (2002). Effect of nitric oxide synthase inhibitors on ovulation in hCG-stimulated mares. Theriogenology 58(5): 1017-1026.
- PIPKIN, B.F.; MORRISON, R.; O'BRIEN, P.M.S. (1987). The effect of prostaglandin E1 upon the pressor and hormonal response to exogenous angiotensin II in human pregnancy. Clin. Sci. 72: 351-357.
- PLACE, N.J.; MCGOWAN, C.M.; LAMB, S.V.; SCHANBACHER, B.J.; MCGOWAN, T.; WALSH, D.M. (2010). Seasonal variation in serum concentrations of selected metabolic hormones in horses. J. Vet. Inter. Med. 24(3): 650-654.
- PLASCHKA, S.; GARCÍA LOPEZ, P.; RIVERA, L.; LOPEZ SEBASTIAN, A.; GARCIA SACRISTAN, A. (1993). Niveles de estradiol 17 β , progesterona y PMSG durante el ciclo reproductor de la yegua de raza española. Med. Vet. 10(7): 422-431.
- PLASCHKA, S.; GARCÍA LOPEZ, P.; RIVERA, L.; MARTIN FERNANDEZ, J.; LEMA, L.; GARCIA SACRISTAN, A. (1996). Parámetros hematológicos y bioquímicos durante la gestación de la yegua de raza española. Med. Vet. 13(12): 647-654.

- PLATA-MADRID, H.; YOUNGQUIST, R.S.; MURPHY, C.N.; BENNETT-WIMBUSH, K.; BRAUN, W.F.; LOCH, W.E. (1994). Ultrasonographic characteristics of the follicular and uterine dynamics in Belgian mares. J. Eq. Vet. Sci. 14: 421-423.
- PLOTKA, E.D.; EAGLE, T.C.; GAULKE, S.J.; TESTER, J.R.; SINIFF, D.B. (1988). Hematologic and blood chemical characteristics of feral horses from three management areas. J. Wild. Dis. 24(2): 231-239.
- PLOTKA, E.D.; FOLEY, C.W.; WITHERSPOON, D.M.; SCHMOLLER, G.C.; GOETSCH, D.D. (1975). Preovulatory changes in peripheral plasma progesterone and oestrogen concentrations in the mare. Am. J. Vet. Res. 36: 1359-1362.
- PLOTKA, E.D.; WITHERSPOON, D.M.; FOLEY, C.W. (1972). Luteal function in the mare as reflected by progesterone concentrations in peripheral blood plasma. Am. J. Vet. Res. 33: 917-920.
- PORTELA, V.M.; GONÇALVES, P.B.; VEIGA, A.M.; NICOLA, E.; BURATINI, J.; PRICE, C.A. (2008). Regulation of angiotensin type 2 receptor in bovine granulosa cells. Endocrinology 149(10): 5004-5011.
- PORTELA, V.M.; ZAMBERLAM, G.; GONÇALVES, P.B.; DE OLIVEIRA, J.F.; PRICE, C.A. (2011). Role of angiotensin II in the periovulatory epidermal growth factor-like cascade in bovine granulosa cells in vitro. Biol. Reprod. 85(6): 1167-1174.
- POUNTAIN, S.J.; PIPKIN, F.B.; HUNTER, M.G. (2010). The ontogeny of components of the renin-angiotensin system in the porcine fetal ovary. Anim.Reprod. Sci. 117(1-2): 119-126.
- PRIME, D.D.; BROSNIHAN, K.B.; HERRINGTON, D.M. (2007). Effects of hormone therapy on blood pressure and the renin-angiotensin system in postmenopausal women. Minerva Cardioangiol. 55(4): 477-485.
- PYCOCK, J. F.; DIELMAN, S.; DRIFJHOUT, P.; VAN DER BRUG, Y.; OEI, C.; VAN DER WEIJDEN, G.C. (1995). Correlation of plasma concentrations of progesterone and oestradiol with ultra-sound characteristics of the uterus and duration of oestrous behaviour in the cycling mare. Reprod. Dom. Anim. 30: 224-227.
- QUINKLER, M.; MEYER, B.; BUMKE-VOGT, C.; GROSSMANN, C.; GRUBER, U.; OELKERS, W.; DIEDERICH, S.; BAHR, V. (2002). Agonistic and antagonistic properties of progesterone metabolites at the human mineralocorticoid receptor. Eur. J. Endocrinol. 146(6): 789-799.
- QURESHI, A.C.; BAHRI, A.; BREEN, L.A.; BARNES, S.C.; POWRIE, J.K.; THOMAS, S.M.; CARROLL, P.V. (2007). The influence of the route of oestrogen administration on serum levels of cortisol-binding globulin and total cortisol. Clin. Endocrinol. (Oxf) 66(5): 632-635.
- RALSTON, S.; NOCKELS, C.; SQUIRES, E. (1988). Differences in diagnostic test results and hematologic data between aged and young horses. Am. J. Vet. Res. 49: 1387-1392.
- RATNASSOORIYA, W.D.; CALDERA, H.S.; PREMAKUMARA, G.A.S.; LIYANAGE, G.K.; MANATUNGA, A.M.V.R.; FERNANDO, S.B.U. (1993). Some haematological values during normal pregnancy in the Sri Lankan elephant (*Elephas maximus maximus*). Med. Sci. Res. 21: 153-156.
- RAUN, K.; SYNNESTVEDT, B. (1997). Folliculogenesis in mares: ultrasonographic aspects. Theriogenology 47(1): 393.
- RAYMOND, S.L.; SMITH, T.K.; SWAMY, H.V. (2003). Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on feed intake, serum chemistry, and hematology of horses, and the efficacy of a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent. J. Anim. Sci. 81(9): 2123-2130.
- REEVES, J.T.; ZAMUDIO, S.; DAHMS, T.E.; ASMUS, I.; BRAUN, B.; BUTTERFIELD, G.E.; MCCULLOUGH, R.G.; MUZA, S.R.; ROCK, P.B.; MOORE, L.G. (2001). Erythropoiesis in women during 11 days at 4,300 m is not affected by menstrual cycle phase. J. Appl. Physiol. 91(6): 2579-2586.
- REICH, M. (1962). The variations in urinary aldosterone levels of normal females during their menstrual cycle. Australas Ann. Med. 11: 41-49.
- REICHERT, L.E. Jr. (1994). The functional relationship between FSH and its receptor as studied by synthetic peptide strategies. Mol. Cell. Endocrinol. 100(1-2): 21-27.
- RENDLE, D.I.; HELLER, J.; HUGHES, K.J.; INNOCENT, G.T.; DURHAM, A.E. (2009). Stability of common biochemistry analytes in equine blood stored at room temperatura. Equine Vet. J. 41(5): 428-432.
- REUDELHUBER, T.L. (2005). The renin-angiotensin system: peptides and enzymes beyond angiotensin II. Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. 14(2): 155-159.

- ROBB, C.A.; DAVIS, J.O.; JOHNSON, J.A.; BLAINE, E.H.; SCHNEIDER, E.G.; BAUMBER, J.S. (1970). Mechanisms regulating the renal excretion of sodium during pregnancy. J. Clin. Invest. 49: 871-880.
- ROBERTSON, J.I.; WEIR, R.J.; DUSTERDIECK, G.O.; FRASER, R.; TREE, M. (1971). Renin, angiotensin and aldosterone in human pregnancy and the menstrual cycle. Scott. Med. J. 16(3):183-196.
- ROBSON, P.J.; ALSTON, T.D.; MYBURGH, K.H. (2003). Prolonged suppression of the innate immune system in the horse following an 80 km endurance race. Equine Vet. J. 35(2): 133-137.
- ROCK, J.S.; BRASELTON, W.E.; NACHREINER, R.F. (1997). Multielemental assay of mammary secretions and sera from periparturient mares by inductively coupled argon plasma emission spectroscopy. Am. J. Vet. Res., 58: 376-378.
- RODGERS, K.E.; XIONG, S.; STEER, R.; DIZEREGA, G.S. (2000). Effect of angiotensin II on hematopoietic progenitor cell proliferation. Stem Cells, 18: 287-294.
- ROESCH, D.M.; TIAN, Y.; ZHENG, W.; SHI, M.; VERBALIS, J.G.; SANDBERG, K. (2000). . Estradiol attenuates angiotensin induced aldosterone secretion in ovariectomized rats. Endocrinology 141(12): 4629-4636.
- ROSE, R.; AMOLD, K.S.; CHURCH, S.; PARIS, R. (1980). Plasma and sweat electrolyte concentrations in the horse during long distance exercise. Equine Vet. J. 12: 19-22.
- ROSE, R.J. (1985). Electrolyte profiles in horses. Vet. Ann. 25: 217-225.
- ROSE, R.J.; HODGSON, D.R. (1994). Hematology and biochemistry. En: *The Athletic Horse: Principles and practice of equine sports medicine*. Hodgson, D.R.; Rose, R.J. (eds.) W.B. Saunders Company, pp. 63-76.
- ROSIVALL, L. (2009). Intrarenal renin-angiotensin system. Mol. Cell Endocrinol. 29(2): 185-192.
- ROWLANDS, G.J.; LITTLE, W.; STARK, A.J.; MANSTON, R. (1979). The blood composition of cows in commercial dairy herds and its relationships with season and lactation. Br. Vet. J. 135: 64-74.
- RUBATTU, S.; QUIMBY, F.W.; SEALY, J.E. (1991). Tissue renin and prorenin increase in female cats during the reproductive cycle without commensurate changes in plasma, amniotic or ovarian follicular fluid. J. Hypertens. 9: 525-535.
- RUBIO, D.; RIBER, C.; SANTIESTEBAN, R.; TOVAR, P.; CASTEJON, F.M. (1994). Hematological alterations as an index of exercise tolerance in different breeds of horses (Andalusian, Arab and Anglo-Arab). Equine Athl. 7: 10-12.
- RUBIO, M.D.; MUÑOZ, A.; SANTIESTEBAN, R.; TOVAR, P.; CASTEJON, F.M. (1995). Comparative hematological study of two breeds of foals (Andalusian and Arabian) subjected to exercise of progressive intensity. J. Vet. Med. Sci. 57(2): 311-315.
- SAMPER, J.C. (2008). Induction of estrus and ovulation: Why some mares respond and others do not. Anim.Reprod. Sci. 70: 445-447.
- SAMPER, J.C.; PYCOCK, J.F. (2007). The normal uterus in estrous. En: *Current therapy in Equine Reproduction*. Samper, J.C.; Pycok, J.F.; McKinnon, A.O. (eds.). Saunders, St. Louis, Missouri, pp. 32-35.
- SANADA, M.; HIGASHI, Y.; NAKAGAWA, K.; SASAKI, S.; KODAMA, I.; SAKASHITA, T.; TSUDA, M.; OHAMA, K. (2001). Oral estrogen replacement therapy increases forearm reactive hyperemia accompanied by increases in serum levels of nitric oxide in postmenopausal women. Gynecol. Endocrinol. 15(2):150-157.
- SANDERS, J.; HARRIS, J.; COOPER, J.; GOBLKE, P.; HUMPHRIES, S.E.; MONTGOMERY, H.; WOODS, D.R. (2006). Lack of change in serum angiotensin-converting enzyme activity during the menstrual cycle. J.R.A.A.S. 7: 231-235.
- SATUÉ K, DOMINGO, R. (2008, a). Serum aldosterone concentrations in Spanish Purebred mares during pregnancy. Reprod. Dom. Anim. 43(3): 112.
- SATUÉ K, DOMINGO, R. (2008, b). Serum cortisol and progesterone concentrations in Spanish Purebred mares during pregnancy. Reprod Dom Anim, 43(4): 55-56.
- SATUÉ K, DOMINGO, R. (2010, a). Relationship between the components of renin, angiotensin II and aldosterone system (RASS) in Spanish Purebred broodmares during normal pregnancy. Reprod. Dom. Anim. 45(2): 91.
- SATUÉ K, DOMINGO, R. (2010, b). Longitudinal study of peripheral concentrations of progesterone, cortisol, aldosterone and oestrone sulphate in serum of the Spanish Purebred broodmares during pregnancy. Reprod. Dom. Anim. 45(2): 91.

- SATUÉ, K. (2004). Hematología en la yegua Pura Raza Española de Estirpe Cartujana. Tesis Doctoral. Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Universidad CEU-Cardenal Herrera, Valencia.
- SATUE, K.; BLANCO, O.; MUÑOZ, A. (2009). AGE-related differences in the hematological profile of Andalusian broodmares of Carthusian strain. Vet. Med. Czech 54(4): 175-182.
- SATUÉ, K.; CALVO, A. (2010). Concentraciones de hemoglobina, hierro y ferritina en yeguas Pura Raza Española durante el ciclo estral. Proceeding XV Simposio Anual de AVEDILA, Zaragoza, 18-19 noviembre, pp. 86.
- SATUE, K.; DOMINGO, R. (2011). Longitudinal study of the rennin angiotensin aldosterone system in purebred Spanish broodmares during pregnancy. Theriogenology 75(7): 1185-1194.
- SATUÉ, K.; DOMINGO, R.; MUÑOZ, A. (2007). Serum cortisol concentrations in Spanish mares during pregnancy. Ippologia 18(3): 1-5.
- SATUÉ, K.; DOMINGO, R.; REDONDO, J.I. (2011). Relationship between progesterone, oestrone sulphate and cortisol and the components of renin angiotensin aldosterone system in Spanish purebred broodmares during pregnancy. Theriogenology 76(8): 1404-1415.
- SATUE, K.; HERNANDEZ, A.; LORENTE, C. (2008). Erythrocyte parameters in Spanish horse: influence of age and gender. In: Proceedings of 10th Annual Congress of the European Society of Veterinary Clinical Pathology (ESVCP) and the 8th Biennial Congress of the International Society for Animal Clinical Pathology (ISACP), European Society of Veterinary Clinical Pathology, CAB Abstracts, Barcelona, Spain, pp. 163-164.
- SATUE, K.; MUÑOZ, A.; BLANCO, O. (2010). Pregnancy influences the hematological profile of Carthusian broodmares. Pol. J. Vet. Sci. 13(2): 393-394.
- SCHALM, O.W.; CARLSON, G.P. (1982). The blood and the blood forming organs. En: Equine Medicine and Surgery. 3ª ed. American Veterinary Publications, pp. 377-414.
- SCHALM, O.W.; JAIN, N.C.; CAROLL, E.J. (1975). Veterinary Haematology. 3ª ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- SCHAUSER, K.H.; NIELSEN, A.H.; DANTZER, V.; POULSEN, K. (2001). Angiotensin-converting Enzyme Activity in the Bovine Uteroplacental Unit Changes in Relation to the Cycle and Pregnancy. Placenta 22: 852-862.
- SCHIEPATI, A.; REMUZZI, G. (2003). Proteinuria y sus consecuencias sobre la enfermedad renal. Acta Pediatr. 92(443): 9-13.
- SCHMIDT, A.; JÖRG, A.B.; MÖSTL, E.; MÜLLER, J.; AURICH, C. (2010). Changes in cortisol release and heart rate and heart rate variability during the initial training of 3-year-old sport horses. Horm. Bev. 58: 628-636.
- SCHOTT H.C. (2002). Pituitary pars intermedia dysfunction: equine Cushing's disease. Vet. Clin. North Am.: Equine Pract. 18(2): 237-270.
- SCHULTZE, D.; BRUNSWING, B.; MUKHOPADHYAY, A.K. (1989). Renin and prorenin-like activities in bovine ovarian follicles. Endocrinology 124(3): 1389-1398.
- SCHUNKERT, H.; DANSER, A.H.; HENSE, H.W.; DERKX, F.H.M.; KURZINGER, S.; GUNTER, A.J.; RIEGGER, M.D. (1997). Effects of estrogen replacement therapy on the renin-angiotensin system in postmenopausal women. Circulation 95: 39-45.
- SEALE, J.V.; WOOD, S.A.; ATKINSON, H.C.; BATE, E.; LIGHTMAN, S.L.; INGRAM, C.D.; JESSOP, D.S.; HARBUZ, M.S. (2004). Gonadectomy reverses the sexually diergic patterns of circadian and stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in male and female rats. Neuroendocrinology 16(6): 516-524.
- SEALEY, J.E.; ATLAS, S.A.; GLORIOSO, N.; MANAPAT, H.; LARAGH, J.H. (1985). Cyclical secretion of prorenin during the menstrual cycle: Synchronization with luteinizing hormone and progesterone. P.N.A.S. 82: 8705-8709.
- SEALEY, J.E.; CATANZARO, D.F.; LAVIN, T.N. (1996). Specific prorenin/renin binding identification and characterization of a novel membrane site. Am. J. Hypertens. 9: 491-502.
- SEALEY, J.E.; CHOLST, I.; GLORIOSO, N.; TROFFA, C.; WEINTRAUB, I.D.; JAMES, G.; LARAGH, J.H. (1987). Sequential changes in plasma luteinizing hormone and plasma prorenin during the menstrual cycle. J. Clin. Endocrinol. Metab. 65(1): 1-5.
- SEALEY, J.E.; GLORIOSO, N.; ITSKOVITZ, J.; LARAGH, J.H. (1986). Prorenin as a reproductive hormone. New form of the renin system. Am. J. Med. 81(6):1041-1046.
- SEALEY, J.E.; ITSKOVITZ-ELDOR, J.; RUBATTU, S.; JAMES, G.; AUGUST P.; THALER, I.; LEVRON, J.; LARAGH, J. (1994). Estradiol and progesterone related increases in the renin aldosterone system: Studies during ovarian stimulation and early pregnancy. J. Clin. Endocrinol. Metab. 79(1): 258-264.

- SEALEY, J.E.; LARAGH, J.H. (2011). Plasma renin activity enzyme-kinetic assay: protection of angiotensin I from bacterial degradation. *Clin. Chem.* 57(3): 529-530.
- SEALEY, J.E.; PARRA, D.; ROSENSTEIN, R.; LARAGH, J.H. (2010). Effective plasma renin activity: a derived measure for assessing residual plasma renin activity in patients taking angiotensin-converting enzyme inhibitors or angiotensin receptor blockers. *Hypertension* 55(3): 16-17.
- SEELY, E.W.; BROSNIHAN, K.B.; JEUNEMAITRE, X.; OKAMURA, K.; WILLIAMS, G.H.; HOLLENBERG, N.K.; HERRINGTON, D.M. (2004). Effects of conjugated oestrogen and droloxifene on the renin-angiotensin system, blood pressure and renal blood flow in postmenopausal women. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 60(3): 315-321.
- SEELY, E.W.; WALSH, B.W.; GERHARD, M.D.; WILLIAMS, G.H. (1999). Estradiol with or without progesterone and ambulatory blood pressure in postmenopausal women. *Hypertension* 33(5):1190-1194.
- SHAND, N.; IRVINE, C.H.; TURNER, J.E.; ALEXANDER, S.L. (2000). A detailed study of hormonal profiles in mares at luteolysis. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 56: 271-279.
- SHARP, D.C.; DAVIS, S.D. (1993). Vernal transition. En: *Equine Reproduction*. McKinnon, A.O.; Voss, J.L. (eds.). Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 133-143.
- SHIBATA, E.; POWERS, R.W.; RAJAKUMAR, A.; VON VERSEN-HOYNCK, F.; GALLAHER, M.J.; LYKINS, D.L.; ROBERTS, J.M.; HUBEL, C.A. (2006). Angiotensin II decreases system A amino acid transporter activity in human placental villous fragments through AT1 receptor activation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 291(5): 1009-1016.
- SHIMIZU, T.; BERISHA, B.; SCHAMS, D.; MIYAMOTO, A. (2007). Changes in the messenger RNA expressions of the endothelin-1 and angiotensin systems in mature follicles of the superovulated bovine ovary. *J. Reprod. Dev.* 53: 655-662.
- SHIRAZI, A.; NASLAJI, A.; BOLOURCHI, M. (2003). Plasma estradiol-17 and progesterone during estrous cycle in caspian mares. *Arch. Razi Inst.* 56: 81-92.
- SHUTTLEWORTH, G.; HUNTER, M.G.; ROBINSON, G.; BROUGHTON PIPKIN, F. (2002). Immunocytochemical localization of angiotensin II receptor subtypes 1 and 2 in the porcine fetal, prepubertal and postpubertal ovary. *J. Anat.* 201: 267-274.
- SIMS, S.T.; REHRER, N.J.; BELL, M.L. (2008). Endogenous and exogenous female sex hormones and renal electrolyte handling: effects of an acute sodium load on plasma volume at rest. *J. Appl. Physiol.* 105(1):121-127.
- SINGH, C.A.; RATTAN, P.J.S. (1981). Seasonal variations in the contents of haemoglobin and the packed cell volume in the blood of Corriedale rams. *J. Res. Agric. Univ.* 18: 341-344, 1981.
- SKIDGEL, R.A.; ERDÖS, E.G. (2004). Angiotensin converting enzyme (ACE) and neprilysin hydrolyze neuropeptides: a brief history, the beginning and follow-ups to early studies. *Peptides* 25: 521-525, 2004.
- SKINNER, S.L.; LUMBERS, E.R.; SYMONDS, E.M. (1969). Alteration by oral contraceptives of normal menstrual changes in plasma renin activity, concentration and substrate. *Clin. Sci.* 36(1): 67-76.
- SLEEPER, M.M.; MCDONNELL, S.M.; ELY, J.J.; REEF, (2008). Chronic oral therapy with enalapril in normal ponies. *J. Vet. Cardiol.* 10: 111-115.
- SLOET VAN OLDRUITENBORG-OOSTERBAAN, M.M. (1999). The role of metabolic profiles in the sports horses. *World Equine Vet. Rev.* 4(4): 3-21.
- SMITH, B.P. (2002). *Large Animal Internal Medicine*. 3rd ed. Mosby Publishing, St Louis.
- SNEERINGER, R.; PENZIAS, A.S.; BARRETT, B.; USHEVA, A. (2011). High levels of mineralocorticoids in preovulatory follicular fluid could contribute to oocyte development. *Fertil. Steril.* 95(1): 182-187.
- SNOW, D.H.; RICKETTS, S.W.; DOUGLAS, T.A. (1983). Posttrace biochemistry in thoroughbreds. En: *Equine Exercise Physiology*. Snow, D.H.; Persson, S.G.B.; Rose, R.J. (eds.) Cambridge, Granta Editions, pp. 389-399.
- SOLIMAN, M.K.; NADIM, M.A. (1967). Calcium sodium and potassium level in the serum and seat of healthy horses after strenuous exercise. *Zentralbl. Vet. Med.* 14: 53-56.
- SOLIMAN, M.K.; ZAKI, K. (1963). Blood picture of Fresian cows during oestrus cycle and pregnancy. *J. Arab. Vet. Med. Assoc.* 4: 343-354.
- SPAANDERMAN, M.E.A.; VAN BEEK, E.; EKHART, T.H.A.; VAN EYCK, J.; CHERIEX, E.C.; DE LEEUW, P.W.; PEETERS, L.L.H. (2000). Changes in hemodynamic parameters and volume homeostasis with the menstrual cycle among women with a history of preeclampsia. *Am. J. Obst. Gynecol.* 182(5): 1127-1134.

- SPENCER, T.E.; JOHNSON, G.A.; BURGHARDT, R.C.; BAZER, F.W. (2004). Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights from domestic animals. Biol. Reprod. 71: 2-10.
- SQUIRES, E.L. (1993). Embryo transfer. En: Equine Reproduction. McKinnon, A.O.; Voss, J.L. (eds.). Lea & Febiger, Philadelphia.
- SQUIRES, E.L.; WENTWORTH, B.C.; GINTHER, O.J. (1974). Progesterone concentration in blood of mares during the estrous cycle, pregnancy and after hysterectomy. J. Anim. Sci. 39(4): 759-767.
- STABENFELDT, S.E.; MUNGLANI, G.; GARCÍA, A.J.; LA PLACA, M.C. (2010). Biometric microenvironment modulates neural stem cell survival, migration, and differentiation. Tissue. Eng. Part. A. 16(2): 3747-3758.
- STACHENFELD, N.N.; KNEEFE, D.L.; TAYLOR, H.S. (2005). Responses to a saline load in gonadotropin-releasing hormone antagonist-pretreated premenopausal women receiving progesterone or estradiol-progesterone therapy. J. Clin. Endocrinol. Metab. 90(1): 386-394.
- STACHENFELD, N.S.; DIPIETRO, L.; KOKOSZKA, C.A.; SILVA, C.; KEEFE, D.L.; NADEL, E.R. (1999). Physiological variability of fluid-regulation hormones in young women. J. Appl. Physiol. 86: 1092-1096.
- STACHENFELD, N.S.; SPLENSER, A.E.; CALZONE, W.L.; TAYLOR, M.P.; KEEFE, D.L. (2001). Sex differences in osmotic regulation of AVP and renal sodium handling. J. Appl. Physiol. 91: 1893-1901.
- STACHENFELD, N.S.; TAYLOR, H.S. (2003). Oestrogen effects on urine concentrating response in young women. J. Physiol. 1(3): 869-880.
- STACHENFELD, N.S.; TAYLOR, H.S. (2005). Progesterone increases plasma volume independent of estradiol. J. Appl. Physiol. 98: 1991-1997.
- STACHENFELD, N.S.; TAYLOR, H.S. (2007). Exogenous oestradiol and progesterone administration does not cause oedema in healthy young women. Clin. Endocrinol. (Oxf) 66(3): 410-418.
- STANTON, A. (2003). Therapeutic potential of renin inhibitors in the management of cardiovascular disorders. Am. J. Cardiovasc. Drugs 3(6): 389-394.
- STEINBRECHER, A.; FUCHS, R.; KOLB, E.; NESTLER, K.; SCHINEFF, C.; SCHMIDT, U.; WAHREN, M. (1990). The content of Hb and the hematocrit value in blood and the total proteins, urea, glucose, free fatty acids, Na, K, Ca, Mg, Pa, Fe, Fe-binding capacity, Cu and Zn in the blood plasma of Warmblood horses during feeding with oat-hay or barley-hay rations over a period of 9 months. Arch. Exp. Veterinarmed. 44(3): 367-381.
- STEINHARDT, M.; THIELSCHER, H.H.; VON HORN, T.; VON HORN, R.; ERMGASSEN, K.; LADEWIG, J.; SMIDT, D. (1994). The hemoglobin concentration in the blood of dairy cattle of different breeds and their offspring during the peripartum period. Tierärztl. Prax. 22(2): 129-135.
- STEPHEN, M.R.; LINDOP, G.B.M. (1998). A renin secreting ovarian steroid cell tumor. Androgen induced erythrocytosis. Am. J. Haematol. 59: 263-264.
- STOCKHAM, S.L. (1995). Interpretation of equine serum biochemical profile results. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 11: 345-350.
- STRIER, K.B.; LYNCH, J.W.; ZIEGLER, T.E. (2003). Hormonal changes during the mating and conception seasons of wild northern muriquis (*Brachyteles arachnoides hypoxanthus*). Am. J. Primatol. 61(2): 85-99.
- STROTT, C.A.; WEST, C.D.; NAKAGAWA, K.; KONDO, T.; TYLER, F.H. (1969). Plasma 11-deoxycorticosteroid and ACTH response to metyrapone (plasma metyrapone test). J. Clin. Endocrinol. Metab. 29(1): 6-11.
- STRZELEC, K.; KANKOFER, M.; PIETRZAK, S. (2011). Cortisol concentration in the saliva of horses subjected to different kinds of exercise. Acta Vet. Brno. 80: 101-105.
- STULL, C.L.; RODIEK, A.V. (2000). Physiological responses of horses to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. J. Anim. Sci. 78(6): 1458-1466.
- SUFIT, E.; HOUP, K.A.; SWEETING, M. (1985). Physiological stimuli of thirst and drinking patterns in ponies. Equine Vet. J. 17(1): 12-16.
- SUNDSFJORD, J.A. (1971, a). Plasma renin activity and aldosterone excretion during prolonged progesterone administration. Acta Endocrinol. (Copenh) 67(3): 483-490.
- SUNDSFJORD, J.A. (1971, b). Radioimmunological determination of plasma renin activity during the menstrual cycle and during acute progesterone administration. Acta Endocrinol. 67(1): 174-186.

- SUNDSFJORD, J.A.; AAKVAAG, A. (1970). Plasma angiotensin II and aldosterone excretion during the menstrual cycle. Acta Endocrinol. 64: 452-458.
- SUNDSFJORD, J.A.; AAKVAAG, A. (1972). Plasma rennin activity, plasma rennin substrate and urinary aldosterone excretion in the menstrual cycle in relation to the concentration of progesterone and oestrogens in the plasma. Acta Endocrinol. 71: 519-529.
- SUNDSFJORD, J.A.; AAKVAAG, A. (1973). Variations in plasma aldosterone and plasma rennin activity throughout the menstrual cycle, with especial reference to the pre-ovulatory period. Acta Endocrinol. 73: 499-508.
- SZMUILOWICZ, E.; ADLER, G.; WILLIAMS, J.; GREEN, D.; YAO, T.; HOPKINS, P.; SEELY, E. (2006). Relationship between aldosterone and progesterone in human menstrual cycle. J. Clin. Endocrinol. Metab. 91 (10): 3981-3987.
- TAO, S.H.; FENG, Z.C.; DU, J. (2007). Detection of angiotensin II in the maternal-fetal interface in pregnancy-induced hypertension. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao. 27(12):1869-1871.
- TAOFEEK, K.O.; FABUCCI, M.E.; BROWN, P.R.; NISAR, N.; HILTON, J.; MATHEWS, W.B.; RAVERT, H.T.; RAUSEO, P. (2004). In Vivo investigation of estrogen regulation of adrenal and renal angiotensin (AT₁) receptor expression by PET. J. Nucl. Med. 45(1): 94-100.
- TAYLOR-MACALLISTER, C.; MACALLISTER, C.G.; WALKER, D.; AALSETH, D. (1997). Haematology and serum biochemistry evaluation in normal postpartum mares. Equine Vet. J. 29(3): 234-235.
- TELEGDY, G.Y.; LISSAK, K. (1965). The effect of progesterone on adrenal corticosterone and aldosterone secretion in the female rat. Acta Physiol. 26(4): 313-318.
- THORNTON, J.R. (1985). Hormonal responses to exercise and training. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 1(3): 477-496.
- THORNTON, J.R. (2000). Effect of the microclimate on horses during international air transportation in an enclosed container. Aust. Vet. J. 78(7): 472-477.
- TICA, V.I.; MARES, P.; GOUZES, C.; BADEA, P.; POPESCU, G.; TICA, I. (2008). The variation of serum cortisol during ovarian stimulation for in vitro fertilization. Gynecol. Endocrinol. 24(1):12-17.
- TILLMAN, L.G. (1987). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the angiotensin converting enzyme inhibitors, captopril and enalapril in the horse. Thesis, University of Georgia, Athens, Georgia.
- TILLMAN, L.G.; MOORE, J.N. (1989). Serum angiotensin converting enzyme activity and response to angiotensin I in horses. Equine Vet. J. 7: 80-83.
- TORIBIO, R.E. (2004). Pars intermedia dysfunction (equine Cushing's disease). En: Equine internal medicine. Reed, S.M.; Bayly, W.M.; Sellon, D.C. (eds.). Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, pp. 1327-1339.
- TORIBIO, R.E. (2005). Diagnosing equine pars intermedia dysfunction: are we there yet?. J. Vet. Intern. Med. 19(2): 145-146.
- TOWSON, D.H.; PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. (1989). Characterization of plasma progesterone concentrations for two distinct luteal morphologies in mares. Theriogenology 32:197-204.
- TRUM, B.F. (1951). Normal variances in horse blood due to breed, age, lactation, pregnancy and altitude. Am. J. Vet. Res. 13: 514-519.
- TSUMAGARI, S.; HIGASHINO, T.; TAKAGI, K.; OHBA, S.; SATOH, S.; TAKEISHI, M. (1991). Changes of plasma concentrations of steroid hormones, prostaglandin F₂ alpha metabolite and pregnant mare serum gonadotropin during pregnancy in thoroughbred mares. J. Vet. Med. Sci. 53(5): 797-801.
- TUCKER, K.E.; HENDERSON, K.A.; DUBY, R.T. (1991). In vitro steroidogenesis by granulosa cells from equine pre-ovulatory follicles. J. Reprod. Fertil. Suppl. 44: 45-55.
- TURNER, D.D.; GARCÍA, M.C.; GINTHER, O.J. (1979). Follicular and gonadotropic changes throughout the year in pony mares. Am. J. Vet. Res. 40: 1694-1700.
- TYLER-McGOWAN, C.M.; GOLLAND, L.C.; EVANS, D.L.; HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. (1999). Haematological and biochemical responses to training and overtraining. Equine Vet. J. Suppl. 30: 621-625.
- USUI, M.; ICHIKI, T.; KATOH, M.; EGASHIRA, K.; TAKESHITA, A. (1998). Regulation of angiotensin II receptor expression by nitric oxide in rat adrenal gland. Hypertension 32(3):527-533.

- VALDÉS G, CORTHORN J. (2011). Challenges posed to the maternal circulation by pregnancy. Integr Blood Press Control. 4: 45-53.
- VAN BEEK, E.; HOUBEN, A.J.; VAN ES, P.N.; WILLEKES, C.; KORTEN, E.C.; DE LEEUW, P.W.; PEETERS, L.L. (1996). Peripheral haemodynamics and renal function in relation to the menstrual cycle. Clin. Sci. (Lond) 91(2): 163-168.
- VAN DEN EIJNDEN, M.M.; SARIS, J.J.; DE BRUIN, R.J.A.; DE WIT, E.; SLUITER, W.; REUDELHUBER, T.L.; SCHALEKAMP, M.A.D.; DERKX, F.H.M.; DANSER, A.H.J. (2001). Prorenin accumulation and activation in human endothelial cells. Importance of mammosome 6-phosphate receptors. Arteriosclerosis, Thromb. Vasc. Biol. 21: 911-916.
- VAN DER KOLK, J.H. (1998). Diseases of the pituitary gland, including hyperadrenocorticism. En: Metabolic and endocrine problems of the horse. Watson, T.D. (ed.). W.B. Saunders. London, pp. 41-59.
- VAN DER KOLK, J.H.; NACHREINER, R.F.; SCHOTT, H.C.; REFSAL, K.R.; ZANELLA, A.J. (2001). Salivary and plasma concentration of cortisol in normal horses and horses with Cushing's disease. Equine Vet. J. 33(2): 211-213.
- VAN DER KOLK, J.H.; WENSIN, T.; KALSBECK, H.C.; BREUKINK, H.J. (1995). Laboratory diagnosis of equine pituitary pars intermedia adenoma. Domest. Anim. Endocrinol. 12: 35-39.
- VAN DIJK, D.J.; BONER, G.; GILER, S.; ERMAN, A. (2001). Increased serum angiotensin converting enzyme activity and plasma angiotensin II levels during pregnancy and postpartum in the diabetic rat. J.R.A.A.S. 2: 193-198.
- VAN HEERDEN, J.; DAUTH, J.; DREYER, M.J.; NICHAS, E.; MARSHALL, C.; DE WAAL, D.T. (1990). Selected laboratory parameters of thoroughbreds. J. S. Afr. Vet. Assoc. 61(4): 155-158.
- VAN RODIJNEN, W.F.; VAN LAMBALGEN, T.A.; VAN WIJHE, M.H.; TANGELDER, G.J.; TER WEE, P.M. (2002). Renal microvascular actions of angiotensin II fragments. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 283(1): 86-92.
- VAZ-SILVA, J.; CARNEIRO, M.M.; FERREIRA, M.C.; PINHEIRO, S.V.; SILVA, D.A.; SILVA-FILHO, A.L.; WITZ, C.A.; REIS, A.M.; SANTOS, R.A.; REIS, F.M. (2009). The vasoactive peptide angiotensin-(1-7), its receptor Mas and the angiotensin-converting enzyme type 2 are expressed in the human endometrium. Reprod. Sci. 16(3): 247-256.
- VECCHI, I.; SABBIONI, A.; BIGLIARDI, E.; MORINI, G.; FERRARI, L.; DI CIOMMO, F.; SUPERCHI, P.; PARMIGIANI, E. (2010). Relationship between body fat and body condition score and their effects on estrous cycles of the Standardbred maiden mare. Vet. Res. Commun. 34(1): 41-45.
- VELEZ, I.C.; PACK, J.D.; PORTER, M.B.; SHARP, D.C.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, G.L. (2012). Secretion of luteinizing hormone into pituitary venous effluent of the follicular and luteal phase mare: novel acceleration of episodic release during constant infusion of gonadotropin-releasing hormone. Domest Anim Endocrinol. (En prensa).
- VELLAR, O.D. (1974). Changes in hemoglobin concentration and hematocrit during the menstrual cycle. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 53(3): 243-246.
- VINSON, G.P.; SARIDOGAN, E.; PUDDEFOOT, J.R. (1997). Tissue renin angiotensin systems and reproduction. Hum. Reprod. 12: 651-662.
- VINUESA, M.; VIVO-RODRIGUEZ, R. (1993) Diámetro del folículo preovulatorio y vesícula embrionaria en yeguas árabes y pura raza española. Arch. Zootec. 42(158): 263-267.
- VIVO, R.; SANTISTEBAN, P.; TOVAR, B.; CASTEJÓN, F. (1986). Plasmatic progesterone values in Andalusian and Arabian mares during the reproductive cycle. Arch. Zootec. 35(131): 59-67.
- VIVO, R.; VINUESA, M.; RODRÍGUEZ, I. (1992). Valoración del desarrollo folicular preovulatorio en yeguas Pura Raza Española y Árabes. Arch. Zootec. 41: 19-26.
- WALLER, A.; SMITHURST, K.J.; ECKER, G.L.; GEOR, R.; LINDINGER, M. (2006). Daily variation in plasma electrolyte and acid-base status in fasted horses over a 25 h period of rest. Equine Comp. Exerc. Physiol. 3: 29-36.
- WALLER, A.P.; PEARSON, W.; LINDINGER, M.I. (2010). Factors contributing to plasma TCO₂ and acid-base state in Ontario Standardbred racehorses. Equine Vet J. 42(38): 592-600.

- WAMBACH, G.; HIGGINS, J.R. (1978). Antimineralocorticoid action of progesterone in the rat: correlation of the effect on electrolyte excretion and interaction with renal mineralocorticoid receptors. Endocrinology 102(6): 1686-1693.
- WATSON, E.D.; THOMASSEN, R.; STEELE, M.; HEALD, M.; LEASK, R.; GROOME, N.P.; RILEY, S.C. (2002). Concentrations of inhibin, progesterone and oestradiol in fluid from dominant and subordinate follicles from mares during spring transition and the breeding season. Anim. Reprod. Sci. 74(1-2): 55-67.
- WEIR, R.J.; DOIG, A.; FRASER, R.; MORTON, J.J.; PARBOOSING, J.; ROBERTSON, J.I.; WILSON, A. (1976). Studies of the renin-angiotensin-aldosterone system, cortisol, DOC, and ADH in normal and hypertensive pregnancy. Perspect. Nephrol. Hypertens. 5: 251-261.
- WESSON, J.A.; GINTHER, O.J. (1981). Puberty in the female pony: reproductive behavior, ovulation, and plasma gonadotropin concentrations. Biol. Reprod. 24(5): 977-986.
- WHEELER, M.A.; PONTARI, M.; DOKITA, S.; NISHIMOTO, T.; CHO, Y.H.; HONG, K.W.; WEISS, R.M. (1997). Age-dependent changes in particulate and soluble guanylyl cyclase activities in urinary tract smooth muscle. Mol. Cell. Biochem. 169(1-2):115-124.
- WICKLER, S.J.; ANDERSON, T.P. (2000). Hematological changes and athletic performance in horses in response to high altitude (3.000 m). Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol., 279(4): 1176-1181.
- WIDMANN, C. (2010). Effect of diet on cortisol concentrations in response to feeding stress in horses. Doctoral Thesis. Department of Animal Sciences. The Ohio State University.
- WILLIAMSON, P.M.; BUDDLE, M.L.; BROWN, M.A.; WHITWORTH, J.A. (1996). Ambulatory blood pressure monitoring (ABPM) in the normal menstrual cycle and in women using oral contraceptives. Comparison with conventional blood pressure measurement. Am. J. Hypertens. 9(1): 953-958.
- WILLMORE J.H.; COSTILL D.L. (1994). Hormonal regulation of exercise. En: Physiology of sport and exercise. Willmore, J.H.; Costill, D.L.; Champaign, I.L. (Eds.). Human Kinetics, Champaign (USA), pp. 122-143.
- WINER, B.M. (1965). Renin in pregnancy and the menstrual cycle. J. Clin. Invest. 44: 1112.
- WINTOUR, E.M.; MORITZ, K.; BUTKUS, A.; BAIRD, R.; ALBISTON, A.; TENIS, N. (1999). Ontogeny and regulation of the AT1 and AT2 receptors in the ovine fetal adrenal gland. Mol. Cell Endocrinol. 25(1-2): 161-170.
- WOLFRAM, M.; BELLINGRATH, S.; KUDIŁKA, B.M. (2011). The cortisol awakening response (CAR) across the female menstrual cycle. Psychoneuroendocrinology 905: 905-912
- WOOD, S.C.; FEDDE, M.R. (1997). Effects of racing and gender on viscoelastic properties of horse blood. Respir. Physiol. 107(2): 165-172.
- WOODS, L.L. (1993). Mechanisms of renal vasodilation after protein feeding: role of the renin-angiotensin system. Am. J. Physiol. 264(3): 601-609.
- XU, X.; XIAO, J.C.; LUO, L.F.; WANG, S.; ZHANG, J.P.; HUANG, J.J.; LIU, M.L.; LIU, C.G.; XU, K.Q.; LI, Y.J.; SONG, H.P. (2008). Effects of ovariectomy and 17beta-estradiol treatment on the renin-angiotensin system, blood pressure, and endothelial ultrastructure. Int. J. Cardiol. 130(2):196-204.
- YANG, S.; BAE, L.; ZHANG, L. (2000). Estrogen increases eNOS and NOx release in human coronary artery endothelium. J. Cardiovasc. Pharmacol. 36(2): 242-247.
- YASHIKI, K.; KUSUNOSE, R.; TAKAGI, S. (1995). Diurnal variations of blood constituents in young thoroughbred horses. J. Equine Sci. 6 (3): 91-97, 1995.
- YOSHIDA, C.; NAKAO, T. (2005). Plasma cortisol and progesterone responses to low doses of adrenocorticotrophic hormone in ovariectomized lactating cows. J. Reprod. Dev. 52(6): 797-803
- YOSHIMURA, Y. (1997). The ovarian renin angiotensin system in reproductive physiology. Front. Neuroendocrinol. 18: 247-291, 1997.
- YOSHIMURA, Y.; KOYAMA, N.; KARUBE, M.; ODA, T.; AKIBA, M.; YOSHINAGA, A.; SHIOKAWA, S.; JINNO, M.; NAKAMURA, Y. (1994). Gonadotropin stimulates ovarian renin-angiotensin system in the rabbit. J. Clin. Invest. 93(1): 180-187.
- YOUNGQUIST, R.S.; THRELFALL, W.R. (2007). Clinical Reproductive Anatomy and Physiology of the Mare. En: Large Animal Theriogenology. Youngquist, R.S.; Threlfall, W.R. (eds.). Saunders Elsevier, St Louis, pp: 47- 67.
- ŽVORC, Z.; MRLJAK, V.; SUŠIĆ, V.; POMPE GOTAL, J. (2006). Haematological and biochemical parameters during pregnancy and lactation in sows. Vet. Arhiv. 76: 245-253.

ANEXO

	DIÁMETRO (cm)	P4 (ng/ml)	E2 (ng/ml)	REN (pg/ml)	ANG-II (ng/ml)	ALD (pg/ml)	CORT (ng/ml)	HTO (%)	Na (mmol/l)	K (mmol/l)	Cl (mmol/l)
DIÁMETRO (cm)	1,00	-0,92*	0,90*	0,74*	0,37	0,80*	0,32	0,19	-0,09	-0,04	0,21
P4 (ng/ml)		1,00	-0,95*	-0,76*	-0,21	-0,79*	-0,25	-0,26	0,11	-0,05	-0,23
E2 (ng/ml)			1,00	0,74*	0,22	0,79*	0,34	0,22	-0,01	0,09	0,30
REN (pg/ml)				1,00	0,36	0,76*	0,54*	0,37	-0,02	0,00	0,32
ANG-II (ng/ml)					1,00	0,37	0,40	0,01	0,00	-0,30	0,04
ALD (pg/ml)						1,00	0,53*	0,35	-0,07	-0,01	0,26
CORT (ng/ml)							1,00	0,30	0,21	0,05	0,39
HTO (%)								1,00	-0,06	0,25	0,47*
Na (mmol/l)									1,00	0,28	0,74*
K (mmol/l)										1,00	0,43
Cl (mmol/l)											1,00

TABLA 15.-Coeficientes de correlación entre los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE durante la fase folicular (*: *significativo p<0,05*).

ANEXO

	P4 (ng/ml)	E2 (ng/ml)	REN (pg/ml)	ANG-II (ng/ml)	ALD (pg/ml)	CORT (ng/ml)	HTO (%)	Na (mmol/l)	K (mmol/l)	Cl (mmol/l)
P4 (ng/ml)	1,00	-0,76*	0,22	-0,80*	0,66*	0,47	0,09	-0,08	-0,27	-0,10
E2 (ng/ml)		1,00	0,13	0,46	-0,35	-0,08	0,07	0,11	0,23	0,06
REN (pg/ml)			1,00	-0,33	0,37	0,39	0,04	-0,06	0,03	-0,11
ANG-II (ng/ml)				1,00	-0,66*	-0,60*	-0,07	0,06	0,27	0,13
ALD (pg/ml)					1,00	0,59*	0,02	-0,13	-0,13	-0,20
CORT (ng/ml)						1,00	0,14	-0,06	-0,31	-0,21
HTO (%)							1,00	-0,15	-0,08	-0,26
Na (mmol/l)								1,00	0,09	0,87*
K (mmol/l)									1,00	0,27
Cl (mmol/l)										1,00

TABLA 16.-Coeficientes de correlación entre los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 25 yeguas PRE durante la fase luteínica (*: *significativo p<0,05*).