

Universidad CEU Cardenal Herrera
Departamento de Medicina y Cirugía Animal



Estudio longitudinal de las concentraciones plasmáticas de neurotransmisores, factor de crecimiento placentario e IGF-1 y su interacción con hormonas de origen hipofisario, placentario y adrenal durante la gestación en la yegua Pura Raza Española

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

María Marcilla Corzano

Dirigida por:

Prof. Dra. Dña. Katuska Satué Ambrojo

VALENCIA

Año 2017



KATIUSKA SATUÉ AMBROJO, DOCTORA EN VETERINARIA Y PROFESORA AGREGADA DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA ANIMAL DE LA UNIVERSIDAD CEU-CARDENAL HERRERA

INFORMA

Que la Tesis Doctoral titulada **“ESTUDIO LONGITUDINAL DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE NEUROTRANSMISORES, FACTOR DE CRECIMIENTO PLACENTARIO, E IGF-1 Y SU INTERACCIÓN CON HORMONAS DE ORIGEN HIPOFISARIO, PLACENTARIO Y ADRENAL DURANTE LA GESTACIÓN EN LA YEGUA PURA RAZA ESPAÑOLA”** del que es autora Doña María Marcilla Corzano, 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 Alfara del Patriarca (Valencia), a 16 de diciembre de 2016.

Fdo. Katuska Satué Ambrojo

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecerle a Katy su dedicación y esfuerzo en este proyecto y transmitirle mi más profunda admiración. Gracias por tu enorme implicación durante este tiempo y por ser más que una tutora.

Agradezco al Laboratorio del Departamento de Fisiología de la Universidad Complutense de Madrid su profesionalidad en la realización del análisis de las muestras.

Agradezco a todos los compañeros y amigos que han confiado en este trabajo y me han animado a llevarlo a cabo.

Gracias a mi pareja, por ser un compañero de vida incondicional, por su paciencia infinita y por darme fuerzas en los momentos difíciles.

Por último, gracias a mi familia, especialmente a mis padres, por permitirme alcanzar este sueño y apoyarme siempre.

*Para mis padres, en reconocimiento
a su sacrificio y esfuerzo...*

ÍNDICE

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN, OBJETIVOS, HIPÓTESIS Y BENEFICIOS ESPERADOS DE LA INVESTIGACIÓN	1
1.1.-INTRODUCCIÓN	1
1.2.-OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.3.-HIPÓTESIS	3
1.4.-BENEFICIOS ESPERADOS DE LA INVESTIGACIÓN	4
2.-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1.-NEUROTRANSMISORES	5
2.1.1.-ADRENALINA Y NORADRENALINA	5
2.1.1.1.-EFECTOS DE LA ADRENALINA Y NORADRENALINA	6
2.1.1.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DE LA ADRENALINA Y NORADRENALINA	9
2.1.1.2.1.- EDAD.....	9
2.1.1.2.2.-RITMOS CIRCADIANOS.....	9
2.1.1.2.3.-CONDICIONES AMBIENTALES	9
2.1.1.2.4.-EJERCICIO FÍSICO	10
2.1.1.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS	11
2.1.1.4.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN	11
2.1.2.-SEROTONINA	15
2.1.2.1.-EFECTOS DE LA SEROTONINA	17
2.1.2.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DE LA SEROTONINA	20
2.1.2.2.1.-RAZA	20
2.1.2.2.2.-SEXO	20
2.1.2.2.3.-EDAD.....	20
2.1.2.2.4.-RITMOS CIRCADIANOS.....	21
2.1.2.2.5.-CONDICIONES DE MANEJO	21
2.1.2.2.6.-ALIMENTACIÓN	21
2.1.2.2.7.-ESTACIONALIDAD	22
2.1.2.2.8.-EJERCICIO FÍSICO	22
2.1.2.2.9.-ALTITUD	22
2.1.2.2.10.-MANEJO DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS	23
2.1.2.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS	23
2.1.2.4.- MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN	23
2.1.3.-DOPAMINA	26
2.1.3.1.-EFECTOS DE LA DOPAMINA	27
2.1.3.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DE LA DOPAMINA	34
2.1.3.2.1.-RAZA	34
2.1.3.2.2.-EDAD.....	34
2.1.3.2.3.-ESTACIONALIDAD	35
2.1.3.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS	36
2.1.3.4.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN	36
2.2.-HORMONAS HIPOFISARIAS	38
2.2.1.-HORMONA ADRENOCORTICOTROPA	38
2.2.1.1.-EFECTOS DE LA HORMONA ADRENOCORTICOTROPA	40
2.2.1.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DE LA HORMONA ADRENOCORTICOTROPA	41
2.2.1.2.1.-RAZA	41
2.2.1.2.2.-EDAD.....	42
2.2.1.2.3.-RITMOS CIRCADIANOS.....	42
2.2.1.2.4.-ALIMENTACIÓN	43
2.2.1.2.5.-ESTACIONALIDAD	43
2.2.1.2.6.-LATITUD	43
2.2.1.2.7.-EJERCICIO FÍSICO	44
2.2.1.2.8.-TRANSPORTE	44
2.2.1.2.9.-PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS.....	44
2.2.1.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS	45
2.2.1.4.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN	45
2.2.2.-HORMONA DEL CRECIMIENTO	47
2.2.2.1.-EFECTOS DE LA HORMONA DEL CRECIMIENTO	49
2.2.2.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DE LA HORMONA DEL CRECIMIENTO	50
2.2.2.2.1.-SEXO	50

2.2.2.2.2.-EDAD.....	51
2.2.2.2.3.-RITMOS CIRCADIANOS.....	51
2.2.2.2.4.-ESTIMULACIÓN SEXUAL.....	51
2.2.2.2.5.-CONDICIÓN CORPORAL.....	51
2.2.2.2.6.-ALIMENTACIÓN.....	52
2.2.2.2.7.-EJERCICIO.....	52
2.2.2.2.8.-VARIACIONES RELACIONADAS CON LA TOMA DE MUESTRAS.....	53
2.2.2.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS.....	53
2.2.2.4.- MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN.....	53
2.2.2.5.-FACTOR DE CRECIMIENTO SIMILAR A INSULINA (IGF-1).....	56
2.2.2.5.1.-EFECTOS DEL FACTOR DE CRECIMIENTO SIMILAR A INSULINA (IGF-1).....	57
2.2.2.5.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DEL IGF-1.....	58
2.2.2.5.2.1.-RAZA.....	58
2.2.2.5.2.2.-SEXO.....	59
2.2.2.5.2.3.-EDAD.....	59
2.2.2.5.2.4.-ALIMENTACIÓN Y CONDICIÓN CORPORAL.....	59
2.2.2.5.2.5.-ESTACIONALIDAD.....	60
2.2.2.5.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS.....	60
2.2.2.5.4.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN.....	60
2.3.-HORMONAS PLACENTARIAS.....	63
2.3.1.-ANDRÓGENOS: ANDROSTENEDIONA, DEHIDROEPIANDROSTERONA Y TESTOSTERONA.....	63
2.3.1.1.-FUNCIONES FISIOLÓGICAS DE LOS ANDRÓGENOS.....	64
2.3.1.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DE LOS ANDRÓGENOS.....	66
2.3.1.2.1.-SEXO.....	66
2.3.1.2.2.-EDAD.....	66
2.3.1.2.3.-ESTACIONALIDAD.....	66
2.3.1.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS.....	67
2.3.1.4.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN.....	67
2.3.2.-SULFATO DE ESTRONA.....	69
2.3.3.-PROGESTERONA.....	70
2.4.-FACTOR DE CRECIMIENTO PLACENTARIO.....	72
2.4.1.-EFECTOS DEL FACTOR DE CRECIMIENTO PLACENTARIO.....	73
2.4.2.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS.....	75
2.4.3.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN.....	75
2.5.-HORMONAS ADRENALES.....	77
2.5.1.-CORTISOL.....	77
2.5.1.1.-EFECTOS DEL CORTISOL.....	78
2.5.1.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DEL CORTISOL.....	81
2.5.1.2.1.-RAZA.....	81
2.5.1.2.2.-EDAD.....	81
2.5.1.2.3.-RITMOS CIRCADIANOS.....	82
2.5.1.2.4.-CONDICIONES DE MANEJO.....	82
2.5.1.2.5.-ESTACIONALIDAD.....	82
2.5.1.2.6.-EJERCICIO FÍSICO.....	83
2.5.1.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS.....	83
2.5.1.4.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN.....	83
3.-MATERIAL Y MÉTODOS.....	87
3.1.-MATERIAL ANIMAL. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LOS ANIMALES.....	87
3.2.-CONDICIONES DE CRÍA Y ALIMENTACIÓN.....	88
3.3.-MANEJO REPRODUCTIVO DE LAS YEGUAS.....	89
3.4.-OBTENCIÓN Y MANEJO DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS.....	90
3.4.1.-PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN, MANIPULACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	90
3.5.-ANÁLISIS LABORATORIAL.....	91
3.5.1.-Neurotransmisores.....	91
3.5.2.-Hormonas hipofisarias.....	92
3.5.3.-Hormonas placentarias.....	93
3.5.4.-Factor de crecimiento placentario.....	95
3.5.5.-Hormonas adrenales.....	96
3.6.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	96

4.-RESULTADOS	97
4.1.-PARÁMETROS DE REFERENCIA DE LAS CONCENTRACIONES DE NEUROTRANSMISORES, HORMONAS HIPOFISARIAS, PLACENTARIAS, ADRENALES Y FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA YEGUA GESTANTE PRE	98
4.2.-EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE NEUROTRANSMISORES, HORMONAS HIPOFISARIAS, PLACENTARIAS, ADRENALES Y FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA YEGUA PRE DURANTE LA GESTACIÓN	99
4.3.-COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE LOS NEUROTRANSMISORES, HORMONAS HIPOFISARIAS, PLACENTARIAS, ADRENALES Y FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA YEGUA PRE DURANTE LA GESTACIÓN	116
5.-DISCUSIÓN.....	119
5.1.-PARÁMETROS DE REFERENCIA DE LAS CONCENTRACIONES DE NEUROTRANSMISORES, HORMONAS HIPOFISARIAS, PLACENTARIAS, ADRENALES Y FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA YEGUA PRE	120
5.1.1.-NEUROTRANSMISORES	120
5.1.1.1.-ADRENALINA Y NORADRENALINA.....	120
5.1.1.2.-SEROTONINA	125
5.1.1.3.-DOPAMINA	129
5.1.2.-HORMONAS HIPOFISARIAS	132
5.1.2.1.-HORMONA ADRENOCORTICOTROPA.....	132
5.1.2.2.-HORMONA DEL CRECIMIENTO	135
5.1.2.2.1.-FACTOR DE CRECIMIENTO SIMILAR A LA INSULINA.....	138
5.1.3.-HORMONAS PLACENTARIAS	141
5.1.3.1.-ANDRÓGENOS: ANDROSTENEDIONA, DEHIDROEPIANDROSTERONA Y TESTOSTERONA	141
5.1.3.2.-SULFATO DE ESTRONA Y PROGESTERONA.....	145
5.1.4.-FACTOR DE CRECIMIENTO PLACENTARIO	145
5.1.5.-HORMONAS ADRENALES.....	147
5.1.5.1.-CORTISOL	147
5.2.-EVOLUCIÓN DE LOS NEUROTRANSMISORES, HORMONAS HIPOFISARIAS, PLACENTARIAS, ADRENALES Y FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA YEGUA PRE DURANTE LA GESTACIÓN	149
5.2.1.-NEUROTRANSMISORES	150
5.2.1.1.-ADRENALINA Y NORADRENALINA.....	150
5.2.1.2.-SEROTONINA	155
5.2.1.3.-DOPAMINA	160
5.2.2.-HORMONAS HIPOFISARIAS	163
5.2.2.1.-HORMONA ADRENOCORTICOTROPA.....	163
5.2.2.2.-HORMONA DEL CRECIMIENTO	166
5.2.2.2.1.-FACTOR DE CRECIMIENTO SIMILAR A LA INSULINA.....	170
5.2.3.-HORMONAS PLACENTARIAS	173
5.2.3.1.-ANDRÓGENOS: ANDROSTENEDIONA, DEHIDROEPIANDROSTERONA Y TESTOSTERONA	174
5.2.3.2.-SULFATO DE ESTRONA.....	177
5.2.3.3.-PROGESTERONA	178
5.2.4.-FACTOR DE CRECIMIENTO PLACENTARIO	180
5.2.5.-HORMONAS ADRENALES.....	184
5.2.5.1.-CORTISOL	184
6.-CONCLUSIONES.....	189
7.-RESUMEN	191
8.-SUMMARY	193
9.-BIBLIOGRAFIA.....	195
10. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	267
10.1.-ÍNDICE DE TABLAS	267
10.2. ÍNDICE DE FIGURAS	268
11. ÍNDICE DE ABREVIATURAS	271

**INTRODUCCIÓN, OBJETIVOS,
HIPÓTESIS Y BENEFICIOS DE LA INVESTIGACIÓN**

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

1.1.-INTRODUCCIÓN

Los cambios metabólicos durante la gestación son considerados como adaptaciones fisiológicas que involucran la máxima conservación de energía y el eficiente uso de nutrientes para el mutuo beneficio de la madre y el desarrollo fetal. Las necesidades del feto en crecimiento son suplidas por la madre mediante la movilización de sus diferentes fuentes energéticas, circunstancias que modifican substancialmente los perfiles hematológicos, bioquímicos sanguíneos y endocrinológicos (Guyton y Hall, 2006).

Algunos componentes del eje somatotropo como, la hormona del crecimiento (GH) y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) influyen notablemente sobre el crecimiento, diferenciación y supervivencia del embrión (Pozzobon y cols., 2005), actividad invasiva del trofoblasto (Lacroix y cols., 2005), hipertrofia endometrial (Oliveira y cols., 2008; Hull y Harvey, 2014) y la actividad mitógena placentaria, incrementando la superficie de intercambio entre la madre y el feto (Chellakooty y cols., 2004). Estos efectos a nivel placentario están representados por el aumento de la permeabilidad, crecimiento, desarrollo de la vasculatura y vasodilatación, cuyo objetivo va encaminado a favorecer el aporte sanguíneo (Gourvas y cols., 2012). Entre los factores angiogénicos destaca el factor de crecimiento placentario (PlGF), que controla el crecimiento y la diferenciación del trofoblasto y, por consiguiente, la invasión de la decidua en el

lecho materno (De Falco, 2012). En la mujer y en animales de experimentación, el PIGF y sus receptores regulan la angiogénesis y vasodilatación necesarios para asegurar el correcto aporte sanguíneo al feto, correlacionándose directamente con el crecimiento fetal y el grado de supervivencia del neonato (Krauss y cols., 2004; Romero y cols., 2008). No obstante, los estudios en la especie equina son escasos y fragmentarios, centrándose mayoritariamente en los factores de crecimiento del endotelio vascular tipo A (VEGF A), epidérmico (EGF) y transformante β -1 (TGF β -1), no existiendo evidencias científicas sobre la actividad del PIGF.

Por otro lado, la gestación induce cambios cardiovasculares notables en la hembra como, aumento del volumen sanguíneo, gasto cardíaco, frecuencia cardíaca, vasodilatación e hipotensión arterial. Dichas modificaciones están asociadas en parte, con la disminución de la actividad del parasimpático, inducida por la acción de las catecolaminas (adrenalina: ADR y noradrenalina: NORADR) y otros neurotransmisores como, la serotonina (5-HT) y la dopamina (DA), agentes implicados en la expansión de la volemia durante la gestación (Maldonado-Durand y cols., 2008). La hormona adrecorticotropa (ACTH) y el cortisol (CORT) junto a las catecolaminas regulan el tono muscular liso, la presión arterial, el metabolismo de los carbohidratos y lípidos, favoreciendo el aumento de la glucemia y de los ácidos grasos libres, la termorregulación, así como la secreción de diversas hormonas (Barta y Drugan, 2010). Tras el establecimiento de la placenta, la secreción de andrógenos (androstenediona; A_4 ; dehidroepiandrosterona: DHEA y testosterona: T), sulfato de estrona (E_1S) y progesterona (P_4) garantizan la implantación, mantenimiento de la gestación y el apropiado metabolismo materno y fetal (Carter, 2012). Por tanto, la acción coordinada de todos estos factores favorecerá el transporte activo de macromoléculas y gases necesarios para que el desarrollo y crecimiento fetal sean establecidos con normalidad (Allen y Wilsher, 2009).

En conocimiento de los autores, no existe ningún estudio de investigación hasta la actualidad en el que se especifique claramente las dinámicas que experimentan los neurotransmisores (ADR, NORADR, 5-HT y DA), factores de crecimiento, PIGF e IGF-1 y endocrinológicos, como hormonas hipofisarias (ACTH y GH), placentarias (A_4 , DHEA, E_1S y P_4) y adrenales (CORT) en la yegua. Por tanto, este estudio permitirá analizar las fluctuaciones y las interrelaciones fisiológicas entre neurotransmisores, factores de crecimiento, hormonas hipofisarias, placentarias y adrenales en la yegua PRE como marcadores de función placentaria y de desarrollo fetal, para posteriormente poder ser aplicados a modelos gestacionales patológicos, que podrían cursar con infertilidad, pérdidas embrionarias tempranas, abortos y/o placentitis.

1.2.-OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

El **OBJETIVO PRINCIPAL** que se ha propuesto en la presente investigación es conocer si existen variaciones en los perfiles sanguíneos de dichos neurotransmisores y parámetros endocrinológicos en yeguas PRE durante el periodo gestacional utilizando métodos específicos y estandarizados de análisis. De forma particular, buscamos saber si estos cambios podrían tener entidad cuantitativa suficiente como para quedar fuera del rango de referencia en yeguas gestantes PRE y que puedan causar un error potencial en la interpretación laboratorial durante el curso de una patología.

Para abordar este objetivo general se proponen los siguientes objetivos específicos:

Objetivo 1: Establecer valores de referencia para las concentraciones de neurotransmisores (ADR, NORADR, 5-HT y DA), hormonas hipofisarias (ACTH y GH), placentarias (A₄, DHEA, T, E₁S y P₄), adrenales (CORT) y PIFG e IGF-1 en yeguas gestantes sanas. 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 periodo gestacional.

Objetivo 2: Analizar si la gestación en la yegua PRE induce modificaciones laboratoriales en las dinámicas de los componentes anteriormente descritos. 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, podría manifestar variaciones substanciales en sus dinámicas.

Objetivo 3: Analizar si los cambios en las concentraciones de GH, ACTH, andrógenos, E₁S y P₄ están implicados fisiológicamente en las modificaciones analíticas que experimentan los diversos neurotransmisores y ambos factores de crecimiento en la yegua gestante PRE. De igual modo, se pretende comprobar si los cambios en las concentraciones de CORT delimitan en cierto grado las modificaciones metabólicas durante este periodo reproductivo.

1.3.-HIPÓTESIS

En base a estos objetivos, las **HIPÓTESIS DE PARTIDA** que se han emitido para el desarrollo de esta Tesis Doctoral han sido las siguientes:

PRIMERA. - Que el estrés, las necesidades metabólicas y/o los cambios hemodinámicos que pueden surgir a lo largo del ciclo reproductor de la yegua PRE modificarán de forma

significativa los parámetros bioquímicos sanguíneos que conforman el perfil laboratorial usado en medicina equina, hecho que justificaría la creación de rangos de referencia específicos para yeguas gestantes.

SEGUNDA. - Que en el origen de dichas modificaciones (ADR, NORADR, 5-HT, DA, PIFG e IGF-1) al igual que sucede en otras especies, estarán involucradas algunas hormonas de origen hipofisario (ACTH y GH), placentario (A₄, DHEA, T, E₁S y P₄) y adrenal (CORT).

1.4.-BENEFICIOS ESPERADOS DE LA INVESTIGACIÓN

Para llevar a cabo una gestación exitosa, se requieren adaptaciones fisiológicas y metabólicas importantes en la madre. Los cambios hormonales se inician incluso antes de que la concepción altere de forma significativa los parámetros hematológicos y bioquímicos sanguíneos. Las hormonas esteroideas, diversos péptidos y prostaglandinas interaccionan para modular la capacidad materna de aporte de energía y nutrientes a la unidad fetoplacentaria. Conforme la gestación progresa muchos parámetros hematológicos y bioquímicos experimentan cambios significativos en comparación con el estado de ingravidez. Por este motivo, una de las aportaciones del estudio a la ciencia será constituir rangos de referencia específicos de diversos factores y parámetros endocrinológicos para gestantes, en los diversos periodos de la preñez, favoreciendo una interpretación correcta de los tests en el diagnóstico y monitorización de la gestación. El uso de este tipo de diagnóstico alcanza una mayor relevancia en el manejo de gestaciones de alto riesgo. De forma particular, se pretende conocer si tales cambios tienen entidad cuantitativa suficiente como para causar un error potencial en la interpretación laboratorial en el curso de una patología de origen reproductivo.

Aunque el establecimiento de valores de referencia se considera un criterio importante a la hora de establecer un diagnóstico preciso en la gestante, pensamos que la principal contribución con los resultados previstos en este estudio será dar a conocer algunos aspectos referentes a las modificaciones e interrelaciones que pudiesen producirse entre diversos parámetros neuroendocrinológicos durante el periodo gestacional, desconocidos hasta la actualidad en la especie equina. Este estudio, por tanto, podrá predecir las interrelaciones existentes entre las hormonas hipofisarias, placentarias y adrenales, así como la posible implicación de otros factores de crecimiento también del mismo origen y neurotransmisores, en la consecución de una gestación y parto fisiológicamente normales.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1.-NEUROTRANSMISORES

2.1.1.-ADRENALINA Y NORADRENALINA

La ADR y la NORADR forman parte del Sistema Nervioso Simpático (SNS). Ambas son sintetizadas a partir de la tirosina por parte de las células cromafines de la médula adrenal. Adicionalmente, la NORADR se produce a nivel de las neuronas adrenérgicas. La mayor parte de la tirosina utilizada en el proceso de síntesis procede de la dieta, se absorbe directamente en intestino y alcanza las células cromafines a través del torrente sanguíneo, en las que se hidroliza a 3,4-hidroxifenilalanina (DOPA) mediante la enzima tirosina hidroxilasa (TH), constituyendo el paso limitante en la síntesis de ambos neurotransmisores (Martin y Crump, 2003). La biosíntesis de catecolaminas en la médula adrenal está regulada vía nerviosa y por el eje Hipotalámico Hipofisario Adrenal (HHA). Mientras la DA β -hidroxilasa (DBH), encargada de metabolizar la DA en NORADR, depende del SNS y los glucocorticoides, la enzima feniletanolamina N-metiltransfera (PNMT), sintetiza ADR a partir de NORADR mediada por los glucocorticoides y, en menor grado, por estímulos nerviosos (Axelrod y Reisine, 1984)

Ante un factor estresante, la estimulación de los nervios simpáticos provoca la liberación de NORADR por parte de las neuronas postganglionares y, de forma sincrónica, las terminaciones simpáticas que inervan la médula adrenal estimulan la secreción de ADR y NORADR a circulación

sanguínea (Guyton y cols., 2006). A través de su unión a receptores específicos distribuidos por todo el organismo, ambas catecolaminas regulan procesos metabólicos y respuestas neurogénicas, como se describe en el siguiente apartado.

2.1.1.1.-EFECTOS DE LA ADRENALINA Y NORADRENALINA

Las acciones ejercidas por las catecolaminas a nivel del órgano efector dependen del receptor adrenérgico al que se unen, diferenciándose fundamentalmente dos tipos, α y β , con 2 subtipos cada uno, α -1 y α -2 y β -1 y β -2 (Martin y Crump, 2003). La NORADR actúa principalmente sobre los β -receptores y la ADR estimula ambos tipos de receptores, equitativamente (Guyton y cols., 2006). Las acciones sistémicas de las catecolaminas dependen de la distribución de los receptores a los que se unen en los tejidos periféricos, a excepción del cerebro, ya que no atraviesan la barrera hematoencefálica. No obstante, la NORADR es un importante neurotransmisor implicado en la regulación de la secreción de diversos péptidos hipotalámicos e hipofisarios. De forma genérica, los receptores adrenérgicos en el caballo se distribuyen en el sistema cardiovascular, respiratorio, gastrointestinal, genitourinario y endocrino, así como a nivel ocular. En el músculo cardíaco, nódulos sinoatrial y atrioventricular, y páncreas los receptores son predominantemente β -1. Los α -1 están presentes en el músculo liso vascular, esfínter vesical, pene, útero y músculo papilar del iris. Los receptores α -2 se encuentran a nivel del Sistema Nervioso Central (SNC), tracto gastrointestinal, útero, riñón y eritrocitos. Mediante marcadores radiactivos se han identificado distintos subtipos de este último tipo de receptor: α -2A, α -2B, α -2C y α -2D (Cullen, 1996). Los receptores β -2 se expresan en la musculatura lisa del íleon y colon, así como en los ganglios entéricos (Re y cols., 1997; Koenig y Cote, 2006). A nivel del tracto respiratorio la distribución de receptores sigue un patrón regional, con predominio de receptores β -1 en todos los segmentos y mayoritariamente de los β -2 en la membrana traqueal, frente a la bronquial o pulmonar (Badino y cols., 2005). Asimismo, los receptores β -2 también se presentan en los adipocitos, participando en la lipólisis (Carrington y cols., 2003).

Se trata de moléculas que están diseñadas para preparar al individuo ante situaciones de emergencia (estrés), lo cual se traduce en modificaciones cardiovasculares, respiratorias, de la musculatura lisa, el metabolismo y la secreción hormonal en otros órganos endocrinos. Globalmente, son responsables de los ajustes homeostáticos rápidos y a corto plazo. Las acciones de la ADR en los tejidos implicados en la glucemia incluyen (Martin y Crump, 2003):

-Disminución en la captación de glucosa por parte de los tejidos que la utilizan, excepto el cerebro, reduciendo la liberación de insulina y la acción de ésta sobre los tejidos diana. En el

músculo esquelético estimula la glucogenolisis vía mecanismo dependiente del AMPc, que activa a la fosforilasa. Debido a que el músculo no tiene glucosa 6P, posiblemente la glucosa no pase a la circulación y sea metabolizada formándose lactato. La liberación de ácido láctico es utilizada posteriormente por el hígado para producir más glucosa.

-En el tejido adiposo actúa como agente lipolítico, a través del AMPc que activa a la lipasa, produciendo ácidos grasos libres y glicerol, que posteriormente pasan a la circulación.

-Activación de la glucogenolisis y la gluconeogénesis e inhibición de la glucogenosíntesis hepáticas. Esta acción la realiza a través de fosforilaciones dependientes del AMPc en su mayor parte, y por otros mecanismos no dependientes del AMPc, como el calcio iónico libre.

-A nivel del páncreas, la unión de la ADR y NORADR a los receptores β -2 localizados en los islotes pancreáticos aumenta la liberación de insulina y glucagón. Por el contrario, la activación de los receptores α -2, disminuye la secreción de insulina. Ante situaciones de hiperglucemia, la ADR decrece la liberación de insulina por parte de las células β -pancreáticas e incrementa la de glucagón en las células α -pancreáticas.

Otra de las funciones de las catecolaminas incluye la regulación del potasio plasmático, disminuyendo al principio debido a su entrada en el músculo esquelético, si bien, posteriormente se incrementa en plasma tras su liberación hepática.

Las acciones cardiovasculares están representadas por el incremento del gasto cardiaco, mediado por receptores β -1, estimulando la tasa de descarga a nivel del nodo sinoatrial, la velocidad de conducción y la fuerza de contracción en el músculo atrial y ventricular. Así, el efecto inotrópico y cronotrópico positivo incrementa el trabajo cardiaco y la demanda de oxígeno, provocando el aumento compensatorio del flujo sanguíneo y el aporte de oxígeno al corazón.

La NORADR produce vasoconstricción prácticamente en toda la circulación, mientras que la ADR produce vasodilatación en músculo esquelético e hígado, vía receptores β -2. El resultado final es la disminución de la resistencia periférica. La NORADR aumenta la presión sistólica y diastólica, y por tanto, la presión total. La ADR aumenta la sistólica y disminuye la diastólica dejando la presión total similar o ligeramente aumentada. Ambas reducen el flujo sanguíneo dérmico y renal e incrementan el flujo sanguíneo coronario, muscular, hepático y cerebral.

Las acciones de ambas catecolaminas sobre el músculo liso visceral son variables y dependen del tipo de receptor al que se unen, de forma que la relajación se consigue mediante la activación de receptores β -2, mientras que los α -1 inducen la contracción. Concretamente, la ADR relaja el músculo liso bronquiolar (efecto broncodilatador) y disminuye las secreciones bronquiales a través de la activación de los receptores β -2 y α , respectivamente. De forma similar,

a nivel gastrointestinal disminuye el tono, motilidad y secreción gástrica e intestinal vía receptores adrenérgicos α -1, α -2 y β -2. Por el contrario, la unión a los receptores α -1 favorece la contracción de los esfínteres pilórico e ileocecal.

En hembras ingravidas la musculatura uterina se contrae en respuesta a la ADR, inhibiéndose el tono y las contracciones musculares durante la gestación. En la mayoría de hembras mamíferas, incluida la yegua, los ovarios, oviductos, útero y vagina se encuentran inervados mayoritariamente por fibras nerviosas simpáticas, y en menor grado por fibras parasimpáticas, destacando su implicación en el desarrollo y maduración folicular, secreción de esteroides gonadales, estimulación de la contractibilidad ovárica y expulsión ovocitaria (Samper, 2009).

Las catecolaminas regulan el eje HHA, si bien, los efectos derivados de la respuesta fisiológica al estrés modifican también la secreción de otras hormonas con las consiguientes repercusiones a nivel sistémico:

-La reducción del flujo sanguíneo renal inducida por la ADR determina la liberación de renina por parte de las células yuxtglomerulares. La renina estimula la formación de angiotensina II y aldosterona, evitando la pérdida de sodio y fluidos, así como la acumulación de potasio.

-En el páncreas endocrino, la ADR decrece la liberación de insulina por parte de las células β -pancreáticas, previamente estimuladas por la hiperglucemia, e incrementa la liberación de glucagón a nivel de las células α -pancreáticas.

-Estimula la liberación de hormona paratiroidea (PTH), aunque la hipercalcemia no afecta a la síntesis. En la glándula tiroidea, con abundante inervación simpática, estimula la síntesis y liberación de hormonas tiroideas y su efecto termogénico.

A nivel ocular, la ADR induce midriasis y disminución de la presión intraocular, mediadas por la unión a receptores α -1 y β -2 adrenérgicos, respectivamente.

En resumen, ante una respuesta simpática, las catecolaminas inducen hiperglucemia, incremento del gasto cardíaco y de la presión arterial media, redistribución del flujo sanguíneo, broncodilatación, aumento de la temperatura por activación del metabolismo en el tejido adiposo y liberación de hormonas tiroideas, elevación del volumen de líquido extracelular, hiperlactacidemia, disminución de la actividad motora gastrointestinal y genitourinaria, así como incremento del consumo de oxígeno y de la agudeza visual (Martin y Crump, 2003).

2.1.1.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DE LA ADRENALINA Y NORADRENALINA

2.1.1.2.1.- EDAD

Si bien la presencia y sensibilidad de los receptores adrenérgicos con el avance de la edad no ha sido evaluada específicamente en équidos, la administración exógena de dobutamina (agente inotrópico β -adrenérgico) induce respuestas vasculares similares en potros y animales adultos (Donaldson, 1988). Asimismo, Marcilla y cols. (2014) revelaron que la edad no modifica las concentraciones de catecolaminas en yeguas PRE con edades comprendidas entre 4 y 17 años. Sin embargo, aunque la síntesis adrenal y el número de receptores adrenérgicos disminuyen con el avance de la edad en seres humanos (Sophie, 2007; Seddighi y Doherty, 2012) y animales de experimentación (Amano y cols., 2013), estas evidencias difieren entre autores (Abd-Allah y cols., 2004; Delorey y cols., 2012).

2.1.1.2.2.-RITMOS CIRCADIANOS

Aunque las catecolaminas experimentan un patrón de secreción circadiano en équidos con niveles máximos a primeras horas del día y mínimos hacia el mediodía y la noche, únicamente la NORADR llega a ser estadísticamente diferente (Kurosawa y cols., 1997).

2.1.1.2.3.-CONDICIONES AMBIENTALES

El estrés térmico provoca elevación de catecolaminas plasmáticas (Marlin, 2007), efecto asociado con el aumento de actividad termorreguladora, ya que las glándulas sudoríparas están reguladas por receptores β -2 adrenérgicos (Mayhew y Ferguson, 1987), y receptores purinérgicos P2Y acoplados a las vías de señalización del calcio (Bovell y cols., 2013). Aunque la ADR y la NORADR se incrementan en ejercicios realizados en lugares frescos y secos, esta elevación es significativamente superior en ejercicios de la misma intensidad y duración, en condiciones de calor y humedad. Dicha respuesta sugiere que ambas catecolaminas juegan un papel importante en la adaptación del equino al estrés térmico (Williams y cols., 2002). Por este motivo, la anhidrosis, caracterizada por la falta de respuesta de las glándulas sudoríparas a la estimulación adrenérgica, incrementa compensatoriamente la síntesis de ADR en condiciones climatológicas adversas (Bashir y Rasedee, 2009; Bovell y cols., 2013).

2.1.1.2.4.-EJERCICIO FÍSICO

Las variaciones plasmáticas de ADR y NORADR en relación al ejercicio han sido evaluadas en diversos estudios (Snow y cols., 1992; Gonzalez y cols., 1998; Kurosawa y cols., 1998; Nagata y cols., 1999; Baragli y cols., 2006). Las catecolaminas desempeñan un papel fundamental en la fisiología del ejercicio en el caballo, ya que regulan la adaptación de la homeostasis y una gran diversidad de procesos bioquímicos implicados en el metabolismo energético en respuesta al entrenamiento y ejercicio físico (Baragli y cols., 2006). Dichas moléculas aumentan la liberación de oxígeno vía estimulación del gasto cardiaco (10 veces superior al basal) y del volumen eritrocitario (4-12 litros de sangre) mediante esplenotomía, lo cual se traduce en un incremento notable de la presión arterial. De este modo, los músculos esqueléticos reciben un volumen sanguíneo 75 veces superior a los basales. Además, las catecolaminas estimulan la respiración, incrementando la frecuencia respiratoria y la relajación de los bronquiolos (McKeever y cols., 1991). Simultáneamente, se activan los mecanismos termorreguladores en el lecho cutáneo, activándose la sudoración. Asimismo, las catecolaminas facilitan la transmisión neuromuscular a nivel del músculo esquelético, activan los procesos contráctiles en las fibras de contracción rápida y movilización de sustratos energéticos vía glucogenolisis muscular. Estas variaciones tienden a ocurrir de forma rápida, ya que dichas moléculas tienen una vida media muy corta (Scott y cols., 2001; Baragli y cols., 2010).

Algunos autores han mostrado incrementos 6 o 7 veces superiores a los niveles basales, para la NORADR y ADR en muestras extraídas mediante punción venosa 5 minutos después de finalizar la carrera en équidos PSI, respectivamente (Martínez y cols., 1988). No obstante, Persson (1967) previamente había sugerido que el procedimiento durante la toma de muestras sanguíneas podría inducir estrés en el animal. Posteriormente, Snow y cols. (1992) utilizando un método de muestreo manual, informaron de valores superiores a 153 y 148 nmol/l para ADR y NORADR, respecto a los basales, respectivamente. La técnica de recogida de las muestras sanguíneas está influenciada considerablemente por la habilidad manual del operador, reduciendo la reproducibilidad de los resultados. Debido a las características metabólicas específicas de estas moléculas, un intervalo de tiempo de 30 segundos entre mediciones individuales, puede inducir modificaciones importantes (Baragli y cols., 2010). Por tanto, la técnica de extracción sanguínea provoca un aumento exponencial de ambas catecolaminas que se suma a la suscitada por el propio ejercicio (Kurosawa y cols., 1998). Además, sólo la anticipación a la toma de muestras sanguíneas incrementa substancialmente los niveles de catecolaminas (Hardee y cols., 1982; Kurosawa y cols., 1997). Sin embargo, periodos de toma de muestras inferiores a 15 segundos parecen no alterar significativamente los niveles de ambas catecolaminas (Ayala y cols., 2012).

Esta elevación de la actividad metabólica es proporcional a la duración e intensidad del ejercicio, incrementándose significativamente en ejercicios de máxima intensidad (Nagata y cols., 1999; Baragli y cols., 2010; Cuniberti y cols., 2012). No obstante, la evolución de ambas catecolaminas es controvertida, describiéndose incrementos proporcionales (Snow y cols., 1992, Kurosawa y cols., 1998) o elevación superior de ADR, sugiriendo que el proceso de liberación, distribución y aclaramiento de la ADR difiere significativamente del mostrado por la NORADR durante el ejercicio de intensidad submáxima. Esta discrepancia también se ha relacionado con la distinción entre la acción de la médula suprarrenal y la participación del SNS a medida que incrementa la intensidad del ejercicio (Baragli y cols., 2010). No obstante, la raza parece ser un factor adicional a la adaptación deportiva en el caballo. De hecho, en ejercicios de intensidad moderada, los équidos PRá presentan niveles de ADR significativamente superiores a los PSI (Podolak y cols., 2006).

2.1.1.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS

Se han descrito concentraciones variables de ADR y NORADR respecto a la raza y al método analítico de detección. En PSI, se han reportado valores medios que oscilan entre 4,7 nmol/l y 4,6 nmol/l (Bashir y Rasedee, 2009), si bien, se han alcanzado medias ligeramente inferiores en équidos de la misma raza, PRá y Standardbred, con cifras que fluctúan entre 0,61 y 0,52 y 0,58 nmol/l y 1,11, y 0,7 y 1,2 nmol/l, respectivamente, mediante HPLC (Podolak y cols., 2006; Baragli y cols., 2010). No obstante, Ayala y cols. (2012) obtuvieron concentraciones significativamente superiores (105,9 y 333,3 nmol/l) empleando ELISA como método de cuantificación.

2.1.1.4.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN

Las catecolaminas **intervienen en la embriogénesis, morfogénesis, regulación, proliferación, diferenciación y migración celular** (Weiss y cols., 1998; Herlenius y Lagercrantz, 2001; Cikos y cols., 2007), **detectándose en etapas muy tempranas del desarrollo embrionario** (Herlenius y Lagercrantz, 2001; Cikos y cols., 2007). De hecho, la TH encargada de la síntesis de catecolaminas, se expresa a nivel de los cuerpos neuronales inmaduros a las 4 semanas, mientras que la **NORADR** está **presente en el tejido cerebral y en la médula espinal a las 5 o 6 semanas de gestación**. También se han detectado niveles variables de ADR y NORADR en el **fluido oviductal** (Cikos y cols., 2007). **La incapacidad para la síntesis de ambas catecolaminas in útero conlleva a la muerte embrionaria o neonatal temprana en animales de experimentación** (Zhou y cols., 1995;

Cikos y cols., 2007). En seres humanos, las concentraciones de catecolaminas se alteran considerablemente con el avance de la gestación. De hecho, Li y cols. (1999) mostraron niveles plasmáticos de ADR y NORADR inferiores a los de hembras no gestantes. Esta respuesta también se produce a nivel central, descendiendo la NORADR en mujeres y animales de experimentación durante el mismo periodo reproductivo (Altemus y cols., 2004; Hellgren, 2013), relacionándose con la expansión del volumen plasmático y con el aumento del aclaramiento metabólico (Natrajan y cols., 1982). Sin embargo, las modificaciones que experimentan las catecolaminas en el plasma materno durante la gestación permanecen desconocidas en la yegua, si bien, se han documentado modificaciones relacionadas con el proceso físico del parto (Nagel y cols., 2014). Las concentraciones de catecolaminas se incrementan significativamente durante el proceso del parto (Wang y cols., 1999), relacionándose con el inicio de las contracciones uterinas. La ADR y NORADR se unen directamente a los receptores α -1 y β -2, provocando contracción y relajación muscular, de forma respectiva (Nakanishi y cols., 1969) e indirectamente, estimulan los receptores para la oxitocina (Engstrom y cols., 1999) y la producción de prostaglandinas (PG) a nivel miometrial (Tada y cols., 1991). Por otro lado, se han evaluado los efectos de la ADR y NORADR sobre la presión arterial, la respuesta a la hipoglucemia fetal tras la infusión de insulina, así como las diferencias existentes en los perfiles de catecolaminas entre potros maduros e inmaduros.

El incremento de la presión arterial es una condición fisiológica que caracteriza al feto equino. Los cambios maduracionales en la actividad del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) inducidos por el incremento preparto de CORT fetal, sugieren que las acciones vasopresoras de la angiotensina II podrían ser responsables, al menos parcialmente, del incremento de la presión arterial (Forhead y cols., 2000). De hecho, Giussani y cols. (2005) mostraron que el flujo sanguíneo periférico, la presión arterial y las concentraciones plasmáticas de ADR, NORADR, CORT y vasopresina se elevan en el feto equino con el avance de la gestación, principalmente en el periodo preparto. La edad gestacional es uno de los factores que mayoritariamente contribuye al efecto que el CORT ejerce sobre la presión sanguínea, correlacionándose positivamente con la NORADR y vasopresina, sin modificaciones en la ADR. La presión sanguínea es un marcador de trabajo cardiaco, asociándose con el mayor consumo de oxígeno a nivel miocárdico. En la gestante, el objetivo del incremento de la presión sanguínea con el avance de la gestación es atender las demandas metabólicas fetales, que al mismo tiempo se refleja en el volumen de eyección y postcarga cardiacas (Fowden y cols., 2000).

En potros jóvenes, la hipoglucemia en respuesta a la administración exógena de insulina conlleva la activación de la corteza y médula adrenal, provocando cambios en el metabolismo de los ácidos grasos y los niveles de lactato plasmáticos. Estas modificaciones metabólicas se

relacionan con la estimulación directa del nervio o bien con los efectos de las catecolaminas circulantes. No obstante, como los ácidos grasos y el lactato se producen en respuesta a la estimulación de los β -adrenoreceptores (Silver y Edwards, 1980), es improbable que las concentraciones circulantes de NORADR sean suficientes para evocar esta respuesta, en particular en fetos inmaduros, en los que el incremento de NORADR plasmático es escaso. Los efectos hipoglucemiantes de la insulina son más intensos, y la respuesta simpática más rápida en potros de mayor edad que en neonatos. No obstante, la capacidad del feto para responder al desafío hipoglucemiante similar al que acontece a nivel uterino, permanece desconocido. La insulina a nivel fetal induce respuesta medular adrenal a las 48 horas de la infusión en ovejas, incrementando significativamente los valores plasmáticos fetales de catecolaminas (Stonestreet y cols., 1989). Sin embargo, el aumento preparto de CORT unido al efecto de los glucocorticoides en la síntesis de ADR por parte de la médula adrenal sugieren que una vez que la hipófisis activa el sistema suprarrenal fetal, la liberación de ADR podría llegar a ser la respuesta dominante a la hipoglucemia aguda (Silver, 1990). Debido a que la maduración de la corteza adrenal se produce muy cerca del parto en el feto equino (Silver y Fowden, 1994), es posible que la respuesta hormonal y metabólica a la hipoglucemia sea decisiva en este momento. Silver y Fowden (1995) mostraron que la hipoglucemia evoca una respuesta simpática adrenal fetal durante los últimos tres meses de gestación y activación del eje HHA a término. Estas respuestas endocrinas además, se acompañan de cambios metabólicos y cardiovasculares, más pronunciados en estos últimos. El feto equino responde a la hipoglucemia aguda en útero y se vuelve más sensible a este estímulo al acercarse el momento del parto. Como se ha expresado previamente, el aumento preparto de CORT se inicia aproximadamente 10 días antes del parto, coincidiendo con los cambios maduraciones esenciales para la supervivencia neonatal (Fowden y cols., 1992; Silver y Fowden, 1994). La respuesta medular y cortical adrenal fetal a la hipoglucemia a término se debe a la maduración hipotalámica o adrenal fetal, o ambas. Así, aunque durante la gestación tardía las catecolaminas adrenales no varían (Comline y Silver, 1971), la elevación de NORADR en respuesta a la hipoglucemia podría estar relacionada con la maduración de la inervación de la médula adrenal e hipotalámica fetal. A pesar de ello, Silver y Fowden (1995) mostraron falta de ADR en el feto hipoglucémico, con independencia de su proximidad al parto. En el neonato, la hipoglucemia inducida por la insulina eleva substancialmente la ADR sin modificaciones en la NORADR (Silver y cols., 1987). La ADR está presente en la médula adrenal en el feto equino durante la gestación tardía, y puede ser liberada en respuesta a la asfisia y estimulación nerviosa en condiciones agudas uterinas (Comline y Siver, 1971). Además, la enzima feniletanolamina N-metiltransferasa (PNMT) encargada de convertir la NORADR a ADR, es detectable en la médula adrenal fetal a los 250 días de gestación y no muestra modificaciones entre este momento ni durante el periodo

postnatal (Han y cols., 1995). Estas observaciones llevan a pensar que la hipoglucemia inducida es insuficiente para estimular la liberación de ADR, ya que es difícil lograr una hipoglucemia profunda (<1 mmol/l) en útero debido a la transferencia placentaria de glucosa, por lo que probablemente la insulina infundida tal vez resulte insuficiente para la liberación de ADR por sí misma, en lugar de la inmadurez. Los pulsos de frecuencia cardíaca así como las respuestas metabólicas a la insulina indican que la activación del SNS es rápida y se produce antes de que la glucosa alcance su nivel mínimo en el plasma fetal. El aumento en la respuesta medular y cortical adrenal hacia el término de la gestación mejorará la viabilidad neonatal, tolerando las fluctuaciones de la disponibilidad de nutrientes, necesarias en este periodo (Silver y Fowden, 1982; Fowden y cols., 1984). No obstante, la respuesta adrenal a la hipoglucemia inducida por la insulina es aún mayor tras el nacimiento (Silver y cols., 1987). Estas observaciones, junto con la falta de liberación de ADR en útero, revelan el estrecho periodo de maduración al final de la gestación en el feto equino.

Silver y cols. (1984) mostraron elevadas concentraciones plasmáticas de catecolaminas en potros prematuros y neonatos maduros. Estos valores fueron más altos en animales con acidosis, en los que se establecía una relación inversa entre el pH sanguíneo y los niveles de catecolaminas durante el parto. Tras el nacimiento, el patrón de liberación fue similar en ambos grupos, aunque la ADR se incrementó en los animales que nacieron a término. Los niveles de CORT y ADR tanto en el nacimiento como 1 hora después del parto se correlacionan positivamente, de forma que las bajas concentraciones de CORT plasmático y la falta de ADR disponible en potros prematuros sugieren la inconveniencia de inducir el parto en la yegua antes de que el feto madure completamente. Tras el parto, en respuesta al estrés hipotensor agudo, la presión sanguínea arterial basal aumenta durante las primeras 2 semanas de vida, acompañada de cambios maduracionales en los componentes vagales y simpáticos a nivel cardíaco (O'Connor y cols., 2005). Todos estos cambios en el sistema simpático adrenal sugieren la adaptación del neonato a la vida extrauterina (Ronca y cols., 2006). De hecho, las catecolaminas durante el parto estimulan la absorción del fluido pulmonar, la homeostasis metabólica y cardíaca, así como la protección frente a la hipoxia (Barker y Olver, 2002). En mujeres sometidas a cesárea, los neonatos muestran mayores incidencias de alteraciones respiratorias (Zanardo y cols., 2004), menor protección frente al estrés oxidativo (Buhimschi y cols., 2003) y retraso del desarrollo neuronal (Otamiri y cols., 1991) respecto a los nacidos mediante parto natural. En fetos ovinos en respuesta a la hipoxia, ambas catecolaminas favorecen la perfusión cerebral, coronaria, adrenal y placentaria, en detrimento de otros tejidos, conllevando a retrasos en el crecimiento intrauterino (Bassett y Hanson, 1998). Aunque tradicionalmente se asume que en mujeres gestantes hipertensas la actividad del SNS se incrementa unido a una mayor sensibilidad a agentes presores como

angiotensina II, ADR y NORADR (Natrajan y cols., 1982), algunos estudios describen niveles superiores (Hernández-Valencia y cols., 2007) o inferiores (Natrajan y cols., 1982) respecto a los que caracterizan a gestantes normotensas. De forma contraria al CORT, la NORADR no atraviesa la placenta (Giannakoupoulos y cols., 1999), aunque puede alterar el ambiente uterino debido a hipertensión arterial e incremento de la resistencia vascular arterial, disminución del flujo sanguíneo uterino y de la oxigenación fetal (Clark y cols., 1990; Stevens y Lumbers, 1995). La elevación de los niveles de catecolaminas se correlaciona con una mayor incidencia de partos prematuros (Holzman y cols., 2009). Asimismo, el incremento de NORADR se ha asociado con disminución de peso al nacimiento (Field y cols., 2006).

2.1.2.-SEROTONINA

La serotonina (5-HT) es un neurotransmisor del grupo de las monoaminas, sintetizado a partir del aminoácido triptófano mediante dos etapas enzimáticas. La primera fase es catalizada por la enzima triptófano-hidroxilasa (TPH), que posee dos isoformas, TPH-1 y TPH-2. Mientras que la TPH-1 se expresa en los tejidos no neuronales, la TPH-2 se encuentra en las neuronas. La segunda reacción se lleva a cabo por la enzima L-aminoácido decarboxilasa, que también participa en la síntesis de catecolaminas (Walther y cols., 2003; Cataldo y cols., 2014).

Los cuerpos neuronales de las células serotoninérgicas se localizan en el rafe dorsal del mesencéfalo, con proyecciones que se extienden a numerosas regiones cerebrales en las que ejerce funciones relacionadas con el comportamiento y el estado de ánimo, entre otras (Davis, 2016). La secreción de 5-HT se encuentra estimulada por la NORADR e inhibida por el ácido gamma-aminobutírico (GABA) (Robbins, 2005; Corr, 2006). Aunque la 5-HT tradicionalmente se ha considerado como un neurotransmisor a nivel del SNC, también se encuentra en una gran variedad de tejidos periféricos en los que actúa como hormona, ejerciendo efectos sistémicos y auto y/o paracrinos. De hecho, su principal reservorio son las células enterocromafines intestinales y las neuronas del plexo mioentérico, en las que regula la motilidad intestinal (Amireault y cols., 2013). Estas células enterocromafines se localizan en la mucosa intestinal y están altamente especializadas en la producción de distintas hormonas y neurotransmisores, siendo la 5-HT la más significativa. Una vez liberada, actúa localmente en el tracto gastrointestinal y pasa a circulación portal para ser captada por las plaquetas, en las que se almacena y se transporta, o metaboliza en hígado o pulmón. De la totalidad de la 5-HT, la fracción circulante es principalmente la forma activa, la cual ejerce directamente sus efectos biológicos a través de diversos subtipos de receptores englobados en 7 familias, acoplados a proteína G. Los receptores

presinápticos son el 5-HT_{1A}, que enlentece la actividad neural, y el 5-HT_{1D} que detecta la presencia de 5-HT en la sinapsis, de forma que en caso de que este receptor esté ocupado, la liberación se inhibe. Los receptores postsinápticos incluyen 5-HT_{1A}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃ y 5-HT₄ (Corr, 2006). Los efectos derivados de la activación de estos receptores dependen del tipo, de la concentración y de su afinidad por la 5-HT (Cataldo y cols., 2014). No obstante, las concentraciones extracelulares están reguladas por las proteínas de transporte (SERT) localizadas en las membranas plasmáticas de las neuronas, plaquetas, células intestinales y endometrio, entre otras localizaciones (Berger y cols., 2009; Rose'Meyer, 2013).

La liberación de 5-HT a partir de las células enterocromafines se relaciona con los sensores del extremo apical de las microvellosidades, respondiendo a la estimulación nerviosa vagal, distensión intraluminal, ingesta, o presencia de ácidos, aminoácidos y soluciones hipo o hiperosmóticas a nivel intestinal (Manocha y Khan, 2012). En équidos, la presión intraluminal supone un importante estímulo (Alberghina y cols., 2010, a), describiéndose un incremento plasmático postprandial en respuesta a la estimulación mecánica ejercida por los movimientos peristálticos y la actividad de las neuronas serotoninérgicas (Alberghina y cols., 2010, b; 2011). Adicionalmente, la 5-HT se sintetiza en otras localizaciones como células inmunitarias, médula adrenal, placenta, adipocitos, osteoclastos, páncreas, médula ósea y glándula mamaria (Stunes y cols., 2011; Manocha y Khan, 2012; Amireault y cols., 2013; Bruschetta y cols., 2013), mientras que en corazón, riñón, bazo y tiroides, pueden detectarse escasas proporciones (Tyce, 1990). Las últimas investigaciones apuntan a la existencia de sistemas microserotoninérgicos en diversos órganos como, las células β -pancreáticas, con capacidad para sintetizar, secretar, almacenar, degradar y responder a la 5-HT a través de sus receptores (Amireault y cols., 2013; Cataldo y cols., 2014). Finalmente, aunque las plaquetas son incapaces de sintetizarla, pueden constituir una fuente de 5-HT adicional tras su activación, dando lugar a modificaciones sensibles en los valores plasmáticos (Berger y cols., 2009).

La 5-HT interacciona con los ejes HHA y simpático-adrenal (SA) en seres humanos y animales de experimentación, respectivamente, mostrándose una relación positiva entre dicho neurotransmisor, el CORT y la ADR (Muck-Seler y cols., 2004; Watanabe y cols., 2014). De esta forma, la administración de agonistas serotoninérgicos estimula el hipotálamo y la hipófisis, induciendo elevación de ACTH y CORT (Jorgensen, 2007). Asimismo, las células cromafines y las fibras nerviosas presentes en la corteza adrenal en cerdos y roedores, respectivamente, estimulan la síntesis de CORT y aldosterona (Contesse y cols., 2000). Además, la administración de agonistas y antagonistas serotoninérgicos, respectivamente, incrementan o disminuyen la secreción adrenal de ADR (Sugimoto y cols., 1992; Yamada y cols., 1995).

2.1.2.1.-EFECTOS DE LA SEROTONINA

Como ha sido expresado previamente, la 5-HT influye sobre funciones cerebrales relacionadas con el estado de ánimo, la memoria, la agresividad, el miedo, el sueño, el apetito y el comportamiento sexual (Berger y cols., 2009). En relación al apetito, en animales de experimentación se ha descrito el predominio de actividad del receptor 5-HT_{2C} y su implicación en la sensación de saciedad, ya que la falta de expresión de dicho receptor, conlleva hiperfagia y obesidad (Lam y cols., 2008). Por otro lado, en équidos, la 5-HT actúa como precursor de la síntesis de melatonina a nivel de la glándula pineal, interviniendo indirectamente sobre los ritmos circadianos (Cataldo y cols., 2014). A nivel central, la 5-HT regula indirectamente la secreción de prolactina (PRL) a través de péptidos estimulantes, y modula la actividad del eje HHA, favoreciendo la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y ACTH (Muck-Seler y cols., 2004; Jorgensen, 2007). Cabe destacar que la interacción entre la 5-HT y el CORT a nivel circulante es variable, ya que el CORT inhibe la agregación plaquetaria, disminuyendo, por tanto, la 5-HT libre (Alberghina y cols., 2005; Torfs y cols., 2015). Por este motivo, en équidos con Síndrome de Cushing se detectan concentraciones de 5-HT inferiores a las de animales sanos (Haritou y cols., 2008).

Por otro lado, la suplementación con triptófano, aminoácido precursor de la 5-HT, parece disminuir la conducta agresiva en seres humanos, cánidos, cerdos, aves y peces, aunque la respuesta es variable dependiendo de la edad, la raza y el sexo. Además, puede verse alterada por la dieta, el ejercicio, el estatus social y el nivel de excitación (Grimmet y Sillence, 2005). Aunque estos suplementos en équidos parecen poseer propiedades calmantes, la bibliografía al respecto es contradictoria (Malmkvist y Christensen, 2007; Noble y cols., 2008). De hecho, dosis bajas, pueden provocar nerviosismo (Bagshaw y cols., 1994), mientras que cantidades elevadas reducen el rendimiento si se administra vía parenteral (Farris y cols., 1998), hecho que no sucede cuando se proporciona vía oral (Vervuert y cols., 2005).

A nivel periférico, la 5-HT desempeña múltiples funciones auto o paracrinas en órganos que son capaces de sintetizarla, y acciones endocrinas, relacionadas con las células enterocromafines. No obstante, gran parte de la 5-HT de origen intestinal ejerce acciones locales, provocando activación de neuronas aferentes intrínsecas y extrínsecas para iniciar respuestas secretoras y peristálticas y transmitir la información al SNC, respectivamente (Gershon y Tack, 2007). Mientras que la interacción de la 5-HT con los receptores 5-HT₂, 5-HT₃ y 5-HT₄ estimula la contractibilidad, los receptores 5-HT₁ y 5-HT₇ inducen efectos relajantes a nivel del tracto

gastrointestinal (GI) (Prause y cols., 2009). Algunos ensayos *in vitro* en équidos han mostrado que la 5-HT actúa sobre la musculatura longitudinal y circular de la flexura pélvica e íleon, estimulando la motilidad intestinal (Weiss y cols., 2002; Delesalle y cols., 2006) y, tras la administración de agonistas 5-HT₄, como el tegaserod y el mosapride, se produce un efecto procinético (Lippold y cols., 2004; Sasaki y cols., 2005). No obstante, el desarrollo del íleo paralítico post-quirúrgico y los niveles plasmáticos de 5-HT parecen no estar correlacionados (Torfs y cols., 2015). El uso de técnicas inmunohistoquímicas ha revelado la presencia de células secretoras de 5-HT a lo largo del tracto GI en équidos adultos y potros. La mayor población celular en la región pilórica y en el margo plicatus del estómago, así como en el ciego y colon ascendente, sugiere la influencia de la 5-HT durante el periodo de lactación y en la patogénesis de úlceras gástricas, especialmente en neonatos (Fink y cols., 2006). En animales de experimentación, la estimulación *in vitro* de receptores serotoninérgicos altera la proliferación y reclutamiento de linfocitos a nivel intestinal, detectándose altos niveles de 5-HT en presencia de inflamación y colitis (Margolis y cols., 2011). En definitiva, estas evidencias muestran que las funciones de la 5-HT son múltiples y que su variabilidad depende de la ubicación de los receptores a nivel de la musculatura lisa, neuronas entéricas, enterocitos y células inmunitarias (Manocha y Khan, 2012). Cabe mencionar que las acciones de la 5-HT sobre el sistema inmunitario no se limitan al tracto GI, ya que influyen sobre la adhesión y quimiotaxis de mastocitos (Kushnir-Sukhov y cols., 2006), la actividad fagocítica de los macrófagos (Nakamura y cols., 2008) y la quimiotaxis de eosinófilos (Boehme y cols., 2004; Ahern, 2011). Asimismo, la 5-HT modula la población de linfocitos B y T, estimulando su apoptosis y proliferación, respectivamente (Hernández y cols., 2010; Ahern, 2011).

La 5-HT circulante liberada a partir de las plaquetas ejerce funciones hemostáticas, estimulando la agregación plaquetaria y el mantenimiento de la función cardiovascular, vía relajación o vasoconstricción de los vasos sanguíneos (Shingala y Balaraman., 2005; Berger y cols., 2009; Torfs y cols., 2012). En équidos, la vasoconstricción ejercida por la 5-HT es variable, estableciéndose una mayor sensibilidad a nivel de la vasculatura digital. Así, las arterias digitales son 30-40 veces más susceptibles que los vasos sanguíneos periféricos de tamaño similar (Elliott y Bailey, 2006). No obstante, la administración de agonistas de receptores 5-HT_{1B} y 5-HT_{1D} provoca vasoconstricción más potente en las venas que en las arterias digitales, mientras que la respuesta a los antagonistas es variable, sugiriendo la existencia de diferencias entre los receptores en ambas localizaciones (Bailey y Elliott, 1998).

El papel de la 5-HT sobre el metabolismo de la glucosa afecta a diversos tipos celulares como, células β -pancreáticas, hepatocitos y adipocitos, con efectos relevantes en la adaptación al ayuno, la gestación y la ingesta de hidratos de carbono, si bien, los efectos en relación a los

receptores y a los órganos sobre los que ejerce sus funciones son contradictorios (Cataldo y cols., 2014). Así, algunos ensayos en animales de experimentación han revelado que la 5-HT estimula la secreción de insulina en respuesta a la glucemia a través de receptores 5-HT₃. Este mecanismo cobra mayor importancia en estados de estrés metabólico, como la resistencia a la insulina y la obesidad, en los cuales las células β -pancreáticas incrementan su actividad para atender las mayores demandas de insulina. De la misma forma, la infusión intraportal de 5-HT bajo condiciones de hiperglucemia e hiperinsulinemia, incrementa la captación hepática de glucosa en perros (Moore y cols., 2004), mientras que la administración intravenosa de dicho neurotransmisor, genera hipoglucemia e hiperinsulinemia en animales de experimentación (Watanabe y cols., 2011). Sin embargo, la elevación plasmática de 5-HT pueden inducir hiperglucemia e hiperglucagonemia de forma secundaria al estímulo adrenal de la síntesis de ADR (Yamada y cols., 1995), lo cual puede provocar una menor captación de 5-HT por parte de las plaquetas, traduciéndose en un incremento de los niveles extraplaquetarios en situaciones de estrés agudo (Naesh y cols., 2001). El ayuno prolongado genera cambios en el perfil de expresión del receptor 5-HT_{2B} a nivel hepático y del tejido adiposo, favoreciendo la lipólisis y la gluconeogénesis a nivel de los adipocitos y hepatocitos, respectivamente. Esta respuesta también se acompaña con una disminución de la captación de glucosa por parte del hígado y del músculo esquelético, contribuyendo al mantenimiento de la glucemia (Sumara y cols., 2012). De cualquier forma, los efectos de la 5-HT sobre el metabolismo hepático son complejos, pudiendo variar en función de la expresión de los receptores y de los niveles de este neurotransmisor (Hampson y cols., 2007; Tudhope y cols., 2012).

En diversas especies como, la mujer, la vaca y animales de experimentación, la síntesis de 5-HT a nivel de la glándula mamaria regula la lactación, la homeostasis de las células epiteliales y la involución del tejido mamario (Marshall y cols., 2010; Collier y cols., 2012). Sobre el mecanismo de la lactación ejerce un mecanismo feedback negativo afectando la síntesis y secreción de leche, y por otro lado, estimula la proteína relacionada con la hormona paratiroidea, y la consiguiente movilización del calcio (Marshall y cols., 2014).

Por otro lado, la 5-HT ejerce un efecto mitógeno sobre los hepatocitos, como han revelado algunos estudios *in vitro* (Balasubramanian y Paulose, 1998; Papadimas y cols., 2006), promueve el crecimiento muscular (Chandran y cols., 2012) y regula la eritropoyesis a nivel de la médula ósea (Amireault y cols., 2011). Finalmente, la inhibición selectiva de la expresión de la enzima TPH1, TPH2 o ambas, ejerce efectos opuestos sobre la remodelación ósea (Yadav y cols., 2008; 2009). Así, aunque la 5-HT de origen intestinal inhibe la proliferación de los osteoblastos y la formación ósea a través del receptor 5-HT_{1B}, la 5-HT de origen cerebral, ejerce un efecto

estimulador. Sorprendentemente, la ausencia de ambas enzimas disminuye la masa ósea evidenciando el predominio central, y se acompaña de un marcado tono simpático, sugiriendo la influencia indirecta de la 5-HT central sobre el receptor β -2 adrenérgico en los osteoblastos, cuya activación reduce la formación ósea (Takeda y cols., 2002).

2.1.2.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DE LA SEROTONINA

2.1.2.2.1.-RAZA

Si bien algunas investigaciones sugieren la influencia de la raza sobre diferencias en la absorción, transporte, metabolismo y/o excreción de triptófano y, por tanto, en la síntesis de 5-HT, los resultados son inconcluyentes (Davis, 2016). No obstante, en yeguas Pura Raza árabe (PRÁ) se han detectado niveles séricos inferiores que en tronas, sin variaciones en las concentraciones de triptófano (Bagshaw y cols., 1994). Por el contrario, en potros PSI sicilianos, Alberghina y cols. (2014) describieron niveles plasmáticos de triptófano significativamente superiores a los angloárabes en tres mediciones realizadas en el primer, segundo y duodécimo mes de vida.

2.1.2.2.2.-SEXO

Aunque en seres humanos las variaciones serotoninérgicas asociadas al sexo resultan controvertidas, con niveles plasmáticos superiores en hombres (Mück-Seler y cols., 1990), mujeres (Quan-Bui y cols., 1984) o similares (Hindberg y Naesh, 1992), en équidos, Ayala y cols. (2012) no hallaron diferencias significativas entre sementales y yeguas.

2.1.2.2.3.-EDAD

Las investigaciones realizadas en seres humanos en relación al efecto de la edad sobre la actividad serotoninérgica han revelado resultados contradictorios, describiéndose incrementos (Kumar y cols., 1998), descensos (Hervig y cols., 1996) e incluso ausencia de variaciones (Karas y cols., 1995; Gall y cols., 2011). A pesar de ello, la evolución de este parámetro difiere entre la 5-HT contenida en las plaquetas y la fracción libre, relacionándose positiva o inversamente con la edad, de forma respectiva (Kumar y cols., 1998). No obstante, las concentraciones intraplaquetarias disminuyen con el avance de la edad en animales de experimentación, sin modificaciones en los niveles plasmáticos (Taborskaya y cols., 2016). De forma similar al ser humano, en équidos los resultados son controvertidos. Así, aunque los niveles plasmáticos de 5-HT alcanzan cifras significativamente superiores en potros frente a équidos adultos (Ferlazzo y cols., 2012), Marcilla y

cols. (2014) no revelaron diferencias respecto a la edad en yeguas gestantes PRE de diversas categorías de edad.

2.1.2.2.4.-RITMOS CIRCADIANOS

En yeguas PSI, Piccione y cols. (2005) tomaron muestras seriadas cada 4 horas durante un periodo de dos días para evaluar la existencia de ritmos circadianos en la actividad serotoninérgica. Los resultados de este estudio revelaron acrofases nocturnas coincidentes con las primeras horas de oscuridad, 30 minutos después del incremento de triptófano. Por el contrario, Alberghina y cols. (2015) detectaron niveles plasmáticos de 5-HT y triptófano significativamente superiores a las 12:00 y a las 16:00 horas, respecto a las 8:00 horas. En potros de 2 años, Bruschetta y cols. (2013) determinaron concentraciones de 5-HT superiores a las 17:00 respecto a la 13:00 horas e inferiores a las 5:00 frente a la 1:00 horas. No obstante, la exposición de animales a fotoperiodo otoñal mostró acrofases alrededor de la media noche (Assenza y cols., 2002), confirmando el efecto del fotoperiodo sobre la secreción de dicho neurotransmisor.

En seres humanos tanto la 5-HT como el triptófano exhiben un marcado patrón circadiano, con valores mínimos a las 16:00 frente a las 8:00 horas durante los meses de primavera (Wirz-Justice y cols., 1977), si bien, no todas las investigaciones confirman estas evidencias. De hecho, se han mostrado acrofases nocturnas (Fogari y Corradi, 1974) o ausencia de ellas (Eynard y cols., 1993), sugiriendo la influencia estacional sobre los ritmos circadianos (Eynard y cols., 1993).

2.1.2.2.5.-CONDICIONES DE MANEJO

El sistema de mantenimiento en estabulación o en las praderas ha revelado diferencias significativas en las concentraciones de 5-HT en équidos. De hecho, aunque a primera hora de la mañana y durante la noche son similares en ambos regímenes, las mediciones realizadas a las 12:00 y a las 16:00 horas muestran un incremento significativo en los animales que pastorean libremente. Estas diferencias se han relacionado con el efecto del ejercicio y el aislamiento (Alberghina y cols., 2015).

2.1.2.2.6.-ALIMENTACIÓN

La disponibilidad de triptófano en dietas ricas en proteínas a base de alfalfa, avena, trigo y soja, entre otros (Tyce, 1990; Noble y cols., 2008; Alberghina y cols., 2010, b) y sus cofactores, como, magnesio, vitamina B₃ y B₆ pueden favorecer la hidroxilación de triptófano y la secreción de

5-HT (Alberghina y cols., 2010, b). Por el contrario, los niveles descienden en équidos alimentados con dietas ricas en almidón frente a los que ingieren raciones fibrosas (Alberghina y cols., 2010, b) o en los que se encuentran en ayuno, respecto a los alimentados regularmente. De hecho, la ingesta alimentaria incrementa los niveles de 5-HT en un 85%, siendo uno de los estímulos más importantes para la secreción, ya que participa activamente en los procesos digestivos y las contracciones intestinales (Alberghina y cols., 2011).

2.1.2.2.7.-ESTACIONALIDAD

En seres humanos, la existencia de un patrón circannual resulta controvertida, describiéndose concentraciones de 5-HT significativamente inferiores en verano (Badcock y cols., 1987), superiores en primavera (Wirz-Justice y cols., 1977) o ausencia de variaciones (Eynard y cols., 1993). Sin embargo, en équidos, Bailey y cols. (2003) observaron un leve incremento de la serotonemia en primavera, aunque no llegó a alcanzar la significación estadística. Posteriormente, Haritou y cols. (2008) concluyeron que la secreción total de 5-HT no se ve sometida a la influencia de la estación del año, aunque el perfil de secreción durante 24 horas se modifica, con valores superiores en junio y diciembre.

2.1.2.2.8.-EJERCICIO FÍSICO

El ejercicio es otro de los factores que altera los niveles de 5-HT en équidos. Se ha hipotetizado que el aumento de actividad de las células enterocromafines intestinales, la concentración plaquetaria secundaria a la deshidratación, así como el grado de contracción esplénica pueden ser factores que estén ligados a dicho incremento (Alberghina y cols., 2010, a). Adicionalmente, Bruschetta y cols. (2014) confirmaron el efecto de dicho neurotransmisor sobre la regulación del sistema vascular en respuesta al ejercicio. Estas evidencias en el caballo confirman las mostradas en animales de experimentación en respuesta al ejercicio en treadmill (Baptista y cols., 2008), si bien, no se han establecido variaciones significativas en relación al entrenamiento aeróbico y anaeróbico en seres humanos (Arida y cols., 1998).

2.1.2.2.9.-ALTITUD

Bruschetta y cols. (2013) verificaron incremento de los niveles plasmáticos de 5-HT en yeguas que habitan en altitudes elevadas respecto a las que residen a nivel del mar. En vacas (Bruschetta y cols., 2010) y animales de experimentación (Awabdy y cols., 2003) esta respuesta se

ha relacionado con la disminución del almacenamiento plaquetario y el consiguiente aumento de la fracción libre en plasma.

2.1.2.2.10.-MANEJO DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS

Como se ha expresado previamente, las plaquetas constituyen un importante reservorio de 5-HT en circulación sanguínea, estimándose que la fracción intraplaquetaria es 25.000 veces superior a la porción libre (Audhya y cols., 2012). De esta forma, la medición en sangre entera proporciona información sobre el contenido presente en las plaquetas (Anderson y cols., 1987; Kremer y cols., 1990), mientras que la 5-HT libre tendría que obtenerse a partir de la fracción de plasma pobre en plaquetas, cuyo contenido fuese inferior a 10.000 plaquetas/ μ L. Otros factores como, el tipo de anticoagulante y la técnica laboratorial también pueden influir potencialmente sobre los resultados analíticos (Torfs y cols., 2012; 2015).

2.1.2.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS

En équidos las concentraciones plasmáticas de 5-HT presentan un amplio rango de variación, oscilando entre 2,5 y 90 ng/ml en muestras pobres en plaquetas (Alberghina y cols., 2010, a; Bruschetta y cols., 2013; Torfs y cols., 2012; 2015) y entre 203,5 y 630 ng/ml en muestras de sangre entera (Alberghina y cols., 2010, b; Ayala y cols., 2012).

2.1.2.4.- MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN

En conocimiento de los autores, no existen investigaciones sobre la evolución de la serotonemia y su función sobre la gestación en la yegua, y más concretamente en la yegua PRE. Sin embargo, en la mujer, el periodo gestacional se caracteriza por un incremento de los niveles plasmáticos de 5-HT, con valores máximos en el tercer y cuarto mes de gestación (Flachaire y cols., 1993; Gall y cols., 2011), relacionados con mayor secreción interna y absorción, y menor metabolismo (Hadjikhani, 2010). Uno de los efectos más conocidos de este neurotransmisor durante la gestación es favorecer la adaptación metabólica materna a las crecientes demandas energéticas por parte del feto en desarrollo. De hecho, la gestación se asocia con un periodo de resistencia a la insulina imputable a los efectos de las hormonas placentarias y a la acumulación de tejido adiposo en la gestante, cuyo objetivo es mantener el gradiente de glucosa maternofetal y el flujo de nutrientes al feto (Buchanan y Xiang, 2005; Ohara-Imaizumi y cols., 2013). Para adaptarse a esta situación, la 5-HT aumenta la actividad de las células β -pancreáticas y la secreción de insulina, de forma, que alteraciones en este sistema, resultan en el desarrollo de la

diabetes gestacional (Sorenson y Brelje, 1997). Los lactógenos maternos (PRL y lactógeno placentario) incrementan la expresión de la enzima TPH1, limitante para la síntesis de 5-HT en los islotes pancreáticos (Schraenen y cols., 2010), sobre los que actúa de forma auto y paracrina a través de los receptores 5-HT2B y 5-HT1D estimulando el aumento de la masa pancreática a mitad de la gestación y propiciando su regresión a término, respectivamente (Kim y cols., 2010). Sin embargo, la proliferación de las células β no es suficiente para atender las demandas de la gestante, siendo necesaria la colaboración del receptor 5-HT3, que incrementa la exocitosis de insulina en respuesta a la glucemia. De hecho, en animales de experimentación que no expresan dicho receptor, la respuesta insulinémica a la glucosa se ve comprometida, a pesar del incremento de la masa pancreática (Ohara-Imaizumi y cols., 2013). De la misma forma, la restricción de triptófano en la dieta o la inhibición de la enzima TPH, bloquea la proliferación de las células β , provocando reducción de la tolerancia a la glucosa (Kim y cols., 2010).

La 5-HT de origen materno parece contribuir notablemente al desarrollo del embrión y a su implantación (Doherty y cols., 2011), ya que el número de neonatos y el tamaño fetal es inferior en hembras con deficiencia de este neurotransmisor (Coté y cols., 2007; Amireault y cols., 2013). De hecho, los descendientes de madres que no expresan la enzima TPH1 y que consecuentemente presentan niveles inferiores de 5-HT suelen mostrar anomalías en la migración de la cresta neural, proliferación de las células mesenquimales, conectividad neuronal y desarrollo craneofacial, gastrointestinal, cardiovascular y de extremidades (Herlenius y Lagercrantz, 2001; Coté y cols., 2007). De la misma forma, la exposición a inhibidores de recaptación de 5-HT durante la gestación, conlleva aborto, parto prematuro, complicaciones neonatales, malformaciones cardíacas, y alteraciones en el desarrollo neuronal, como el autismo. El mecanismo de acción de estos fármacos consiste en bloquear la recaptación de 5-HT a través de su transportador SERT, incrementando los niveles en el espacio extracelular (Alwan y cols., 2016).

Se ha detectado presencia de 5-HT en el embrión y en el ambiente uterino en etapas muy tempranas de la gestación. Los niveles de dicho neurotransmisor se incrementan poco después de la fertilización y aunque la síntesis depende de la enzima TPH1, ya que en hembras deficitarias los niveles descienden, no se ha detectado actividad enzimática a nivel uterino y oviductal, de forma que su origen está aún por determinar (Amireault y cols., 2013). Asimismo, la enzima TPH2 se expresa en oocitos y embriones de animales de experimentación desde el comienzo de la división celular hasta el estadio de blastocisto, sugiriéndose la capacidad del embrión, aún sin tejido neuronal, para sintetizar la 5-HT (Basu y cols., 2008; Amireault y cols., 2013).

Diversos ensayos realizados por Bonnin y cols. (2011) han puesto de manifiesto la síntesis placentaria de 5-HT en seres humanos y animales de experimentación, con especial relevancia en

las primeras etapas de desarrollo del embrión. En animales normales e incapaces de sintetizar 5-HT cerebral, las concentraciones cerebrales son similares hasta los 15 días de gestación, sugiriendo la existencia de una fuente exógena, ya que el inicio de la síntesis por parte de las células enterocromafines fetales es más tardío. Por otro lado, los niveles serotoninérgicos cerebrales en embriones procedentes de madres sin SERT y que por tanto no presentan 5-HT circulante debido a la rápida tasa de metabolización, no difieren significativamente de los hallados en embriones a partir de madres con SERT. Estas evidencias indican que la 5-HT materna no es la fuente principal. Ambos hallazgos, unido a la evidencia de la expresión de TPH1 en el sincitiotrofoblasto, la síntesis in vitro de 5-HT en extractos placentarios incubados con triptófano, así como el incremento de 5-HT umbilical tras la infusión de triptófano en la arteria uterina, sugieren que la 5-HT placentaria influye sobre los niveles fetales y favorece el mantenimiento de niveles cerebrales óptimos necesarios para la migración, proliferación, maduración celular y crecimiento axonal (Bonnin y Levit, 2011). Además de sus efectos directos sobre el desarrollo fetal, la presencia de SERT en la placenta y el papel de la 5-HT a nivel vascular, indican el efecto directo sobre la placenta e indirectamente, sobre el crecimiento fetal (Rose'Meyer, 2013). Por el contrario, otros estudios en mujeres gestantes y animales de experimentación no han revelado variaciones de 5-HT a nivel plasmático, plaquetario y cerebral (Rowland y cols., 1978; Okatani y cols., 1990) o bien, han evidenciado niveles inferiores en gestantes respecto a hembras ingravidas (Shetty y Pathak, 2002).

Algunas alteraciones gestacionales como depresión, *hiperemesis gravidarum*, preeclampsia y parto prematuro se han asociado con niveles anormales de 5-HT. En mujeres gestantes con depresión la 5-HT disminuye sensiblemente y de forma proporcional a la gravedad del proceso (Field y cols., 2008). En estos casos, la determinación de este neurotransmisor se torna en una herramienta útil para detectar el riesgo de parto prematuro, ya que la incidencia se duplica en gestaciones que cursan con niveles anormalmente bajos (Field y cols., 2004). Por el contrario, patologías como, *hiperemesis gravidarum*, hipertensión y preeclampsia cursan con incremento sostenido de las concentraciones de 5-HT durante el desarrollo (Zhao y cols., 1999; Cengiz y cols., 2015). El incremento de 5-HT está relacionado directamente con la presión sistólica y diastólica sin variaciones intraplaquetarias, sugiriendo la implicación de las proteínas de captación en la fisiopatología del proceso (Carrasco y cols., 1998). Asimismo, elevaciones sanguíneas de 5-HT materna o mutaciones en la enzima placentaria triptófano 2,3-dioxigenasa, encargada de la degradación del triptófano y regulación de la biodisponibilidad para la síntesis de 5-HT, perturban la neurogénesis, induciendo alteraciones comportamentales y mayor riesgo en el desarrollo del autismo (Nabi y cols., 2004; Coté y cols., 2007; Kanai y cols., 2009; Bonnin y cols.,

2011). En estas situaciones, los elevados niveles maternos de 5-HT podrían inhibir el desarrollo del sistema serotoninérgico mediante mecanismo feedback, alterando el desarrollo cerebral (Hadjikhani, 2010). El consumo de dietas ricas en grasas en primates gestantes conlleva descenso de los niveles serotoninérgicos centrales en la descendencia, así como mayor incidencia de problemas comportamentales como, ansiedad y agresividad (Sullivan y cols., 2010). Finalmente, determinadas situaciones de estrés, caracterizadas por elevación de la cortisolemia, estimulan la expresión de SERT en seres humanos y en animales de experimentación, favoreciendo la captación celular de 5-HT, alteraciones en la serotonemia gestacional materna y en el desarrollo neuronal prenatal (Tafet y cols., 2001; Rose'Meyer, 2013). De forma inversa, los inhibidores de recaptación de 5-HT como antidepresivos, potencian la actividad serotoninérgica a nivel central y estabilizan la función del eje HHA alterada en esta patología (Oberlander y cols., 2008).

2.1.3.-DOPAMINA

La DA es una catecolamina que ejerce funciones de neurotransmisor en el SNC tras la activación de receptores dopaminérgicos a nivel celular. La DA es secretada por dos grupos neuronales a nivel central. El primero de ellos se localiza en la eminencia media hipotalámica y está implicado en la regulación de la liberación neurohormonal de PRL a partir del lóbulo anterior de la hipófisis. El segundo grupo neuronal se encuentra en las terminaciones de la sustancia negra del mesencéfalo, concretamente en la región estriada del ganglio basal detectándose niveles máximos en el putamen y núcleo caudado. Debido a su estructura molecular, dicho neurotransmisor no atraviesa la barrera hematoencefálica, por lo que es el ácido homovalínico, su principal metabolito, el que informa de las concentraciones dopaminérgicas a nivel cerebral (Guyton y Hall, 2006; Rubí y Maechler, 2010).

La DA circulante procede fundamentalmente de fibras nerviosas simpáticas, células cromafines de la médula adrenal, tracto GI, y células neuroendocrinas conocidas como APUD (acrónimo de "amine precursor uptake and decarboxylation") (Zeng y cols., 2007; Rubí y Maechler, 2010). Estos tipos celulares pueden localizarse en riñón (Mappouras y cols., 1990), páncreas (Rubí y cols., 2005), retina (Kubrusly y cols., 2008) y leucocitos (Kokkinou y cols., 2009), entre otros, y sintetizan hormonas peptídicas y aminas, con funciones auto y paracrinas. Algunas de las células APUD situadas en el epitelio tubular renal no expresan la enzima TH, por lo que la síntesis de DA depende de la disponibilidad de L-DOPA y su transporte al interior celular, incrementándose en presencia de sodio (Zeng y cols., 2007). Adicionalmente, en condiciones de hipoxia el cuerpo carotídeo libera DA, por tratarse de un importante quimiorreceptor a nivel

periférico (Pardal y cols., 2007). La conversión de tirosina en L-DOPA por la acción de la enzima TH constituye el paso limitante en la síntesis de DA. La actividad de dicha enzima es controlada principalmente por el SNC y en menor grado, por los corticoides (Axelrod y Reisine, 1984) y las catecolaminas mediante mecanismo feedback (Meiser y cols., 2013). La 5-HT modula la liberación de DA, ejerciendo acciones estimuladoras e inhibitorias dependiendo de la interacción con los receptores, si bien, los mecanismos aún no han sido esclarecidos (Boureau y Dayan, 2011). Cabe mencionar que mientras los estrógenos inhiben la recaptación de DA en la sinapsis, incrementando los niveles extracelulares (Watson y cols., 2006), la progesterona (P_4) estimula la secreción de DA hacia la hipófisis (Cramer y cols., 1979).

Las técnicas de clonación molecular han permitido identificar 5 tipos de receptores dopaminérgicos, todos ellos acoplados a proteínas G y divididos en dos familias farmacológicas denominadas D1 y D2. Los receptores de la familia D1 (subtipos D1 y D5) estimulan la formación de AMPc como principal mecanismo de transducción de señales. Los subtipos pertenecientes a la familia D2 (D2, D3 y D4) inhiben la formación de AMPc, activan canales de potasio y reducen la entrada de calcio a través de canales dependientes del voltaje (Girault y Greengard, 2004). Los receptores dopaminérgicos se encuentran ampliamente distribuidos en diversas áreas del SNC (aunque de manera diferencial de acuerdo al subtipo) en el que son responsables de las diversas acciones fisiológicas de la DA, algunas de las cuales dependerán de su concentración y del tipo de receptor al que se una. De hecho, cuando dicho neurotransmisor está presente en elevadas concentraciones, puede interactuar tanto con receptores adrenérgicos como serotoninérgicos (Zeng y cols., 2007).

2.1.3.1.-EFECTOS DE LA DOPAMINA

Como se ha descrito previamente, la DA actúa de intermediario en la síntesis de ADR y NORADR, siendo esencial para mantener la actividad del eje SA. No obstante, sobre el SNC las neuronas dopaminérgicas regulan importantes funciones como la cognición, el control motor, la visión, el estado de ánimo, el apetito, el sueño, el aprendizaje, la percepción del dolor y el comportamiento sexual (Beaulieu y Gainetdinov, 2011; Jackson y cols., 2012). Aunque la DA ejerce acciones inhibitorias y excitatorias según las áreas cerebrales que inerva, su actividad no es puramente neurotransmisora sino más bien neuromoduladora, cuyas acciones modifican la respuesta de las neuronas diana a otros neurotransmisores (Girault y Greengard, 2004; Guyton y Hall, 2006). De hecho, la disfunción de las señales dopaminérgicas o la ausencia de DA debido a la degeneración neuronal, se asocia con desórdenes psicológicos complejos, defectos cognitivos,

esquizofrenia y parkinson, como ha sido documentado en seres humanos (Jackson y cols., 2012). En este sentido, diversas investigaciones en équidos han relacionado alteraciones en el comportamiento con cambios en los niveles centrales de DA. Así, estados dopaminérgicos exacerbados se asocian con el desarrollo de estereotipias, como el tiro, baile del oso (McBride y Hemmings, 2005; Roberts y cols., 2015) o parpadeo espontáneo (Roberts y cols., 2016). Por el contrario, el descenso de actividad dopaminérgica a nivel central que acompaña al síndrome de Cushing, se relaciona con depresión, letargia y apatía (McFarlane y cols., 2005). La DA cerebral se correlaciona positiva y negativamente con la ansiedad y docilidad, respectivamente, sugiriendo su implicación en el temperamento del equino (Kaminer y cols., 2011). Asimismo, modificaciones en el gen que codifica el receptor D4 relacionado con el estado de alerta o la curiosidad entre équidos PSI criollos y nativos japoneses, sugieren su influencia en las diferencias comportamentales asociadas a la raza (Hori y cols., 2013).

A nivel sistémico, la DA actúa de forma paracrina tanto en riñón como intestino regulando la natriuresis y la motilidad intestinal, respectivamente. El efecto natriurético es el resultado del incremento de la perfusión renal e inhibición de la reabsorción tubular de sodio vía enzima $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$, de forma que alteraciones en la síntesis renal de DA o en sus receptores adquieren implicaciones clínicas importantes en el desarrollo de la hipertensión (Goldstein y cols., 2003; Zeng y cols., 2007). Por otro lado, la activación de los receptores D1 y D2 estimula e inhibe respectivamente la secreción renal de renina y aldosterona (Missale y cols., 1998), si bien, los agonistas dopaminérgicos como la bromocriptina inhiben los efectos estimuladores de la angiotensina II sobre la actividad de la $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$ (Hussain y cols., 1998). No obstante, la administración exógena de DA en équidos no modifica la excreción fraccional de sodio y potasio, aunque incrementa el volumen urinario y desciende la osmolaridad (Trim y cols., 1989). Cabe destacar que el efecto de la DA sobre la presión sanguínea no se limita al riñón. Así, la contractibilidad de la musculatura vascular se ve directamente influenciada por la DA circulante y por la sintetizada en las células endoteliales, observándose generalmente una correlación negativa entre los niveles plasmáticos y la presión sanguínea (Rubí y Maechler, 2010).

A nivel cardiopulmonar, la DA induce aumento del gasto cardíaco a los 15 y 30 minutos después de la administración (2,5-5,0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$), descenso de la resistencia periférica, sin modificaciones de la frecuencia cardíaca, volumen sanguíneo, proteínas totales, leucocitos totales, plaquetas, glucosa y lactato, si bien, a dosis elevadas, puede provocar arritmias (Trim y cols., 1985). Así, bajo ciertas circunstancias como estados de shock el tratamiento con DA puede favorecer el incremento de la presión sanguínea (Trim y cols., 1991; Backer y cols., 2010). De hecho, la infusión de DA en équidos endotóxicos tras cirugía mejora significativamente la función

cardiovascular, incrementando el gasto cardíaco y la presión arterial. Paralelamente, la DA inhibe notablemente la permeabilidad vascular y la actividad angiogénica inducida por el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) a través de su unión al receptor D2, provocando endocitosis de su receptor (VEGFR), esencial para promover la angiogénesis (Basu y cols., 2001).

Diversos estudios en seres humanos y animales de experimentación han demostrado el efecto de la DA sobre el metabolismo de la glucosa. Por un lado, la DA inhibe la secreción de insulina pancreática en respuesta a los niveles circulantes o a las señales auto y paracrinas de la DA sintetizada en el páncreas. El páncreas (endocrino y exocrino) se encuentra inervado por fibras simpáticas, de forma que situaciones estresantes asociadas con el incremento de actividad del SNS, inhiben substancialmente la liberación de insulina. Por otro lado, la PRL promueve la proliferación y actividad secretora de las células β -pancreáticas (Brelje y cols., 1994), por lo que la inhibición tónica de la DA hipotalámica sobre la PRL contribuye indirectamente a la supresión pancreática de insulina (Rubí y Maechler, 2010).

En la retina la síntesis y liberación de DA está regulada por el estímulo lumínico, de forma que su utilización es mayor durante la exposición a la luz y/o a lo largo del día (Doyle y cols., 2002) mediando mecanismos adaptativos a la luz y regulando procesos circadianos de la función retinal (Jackson y cols., 2012). De hecho, el sistema DA-melatonina constituye la vía de señalización que permite la adaptación de la visión a la luz y a la oscuridad mediante la reconfiguración de los conos y bastones presentes en la retina (McMahon y cols., 2014). Adicionalmente, la DA puede modificar la síntesis de melatonina a nivel de la glándula pineal modulando la disponibilidad de 5-HT a través de su unión a receptores dopa-adrenérgicos, D4- α 1 y D4- β 1 (González y cols., 2012). El efecto que la DA ejerce sobre la síntesis de melatonina, implica el control de la misma sobre los ritmos circadianos (Rubí y Maechler, 2010).

Por otro lado, la administración experimental de DA reduce inicialmente las concentraciones séricas de tirotrona (TSH), hormona foliculoestimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), PRL e incrementa la hormona del crecimiento (GH). Aunque la PRL y TSH se mantienen inhibidas tras la finalización del tratamiento, los niveles de FSH y LH comienzan a recuperarse. Estas evidencias sugieren que el grado de supresión inducido por la DA es inferior en estas gonadotropinas frente a la PRL y TSH. El almacenamiento de gonadotropinas durante el periodo de tratamiento predomina sobre el efecto de la actividad dopaminérgica a nivel de la adenohipófisis (den Berghe y cols., 1994, a, b; den Beghe y de Zegher, 1996). No obstante, la falta de inervación dopaminérgica en la pars intermedia ocasiona incremento de ACTH (McFarlane, 2007).

En la actualidad, los programas de reproducción en la yegua están focalizados en acelerar el inicio de la temporada reproductiva, acortando la duración del periodo de transición entre el anestro y el periodo de actividad ovárica cíclica. Los tratamientos utilizados incluyen el factor hipotalámico de liberación de gonadotropinas (GnRH), la P₄, los antagonistas de DA D₂, así como programas de luz artificial. La DA está implicada en el control de la estacionalidad reproductiva en la yegua. Una disminución gradual de la inhibición que ejerce la DA sobre la secreción de gonadotropinas puede jugar un papel permisivo sobre la ovulación. De hecho, la administración de antagonistas o bloqueantes selectivos de los receptores dopaminérgicos D₂, como el sulpiride, perfenacina y la domperamida a mediados o final del periodo de transición primaveral y anestro, adelanta con éxito la primera ovulación de la temporada (McCue y cols., 1999; Donadeu y Thompson, 2002). No obstante, su efectividad es variable, sugiriéndose la influencia de otros factores como el incremento de expresión de receptores para la FSH a nivel de la superficie ovárica (King y cols., 2008), la localización geográfica y el fotoperiodo (Nagy y cols., 1999; Brendemuehl y Cross, 2000).

A nivel hipotalámico, los antagonistas de la DA aumentan la secreción de GnRH, estimulando al mismo tiempo, la secreción de FSH y LH hipofisaria (Panzani y cols., 2011). La secreción de PRL está controlada principalmente por la DA, hormona asociada con el comienzo de la actividad reproductiva en hembras jóvenes debido a su actuación sobre la enzima aromatasasa a nivel ovárico. Si bien, la secreción de gonadotropinas durante el anestro parece estar regulada parcialmente por la acción inhibitoria de las neuronas dopaminérgicas sobre la producción de GnRH (Havern y cols., 1994; Nagy y cols., 2000) y la secreción de PRL, inhibiendo la actividad de las células lactotropas a nivel de la adenohipófisis (Munemura y cols., 1980; Creese y cols., 1983). En yeguas en anestro que están bajo inhibición tónica de la secreción de PRL ejercida por la DA, la administración de antagonistas D₂, induce la ovulación y actividad ovárica (Donadeu y Thompson, 2002) sin aumento de la secreción de gonadotropinas (Brendemuehl y Cross, 2000). Se ha hipotetizado que la sulpirida aumenta la prolactinemia en yeguas en anestro, temporada de cría y yeguas ovariectomizadas, más pronunciada en yeguas cíclicas sin modificaciones en las concentraciones plasmáticas de LH en periodo anovulatorio y cíclico (Aurich y cols., 1999). Besonet y cols. (1996) mostraron que la administración diaria de sulpirida durante el anestro estacional adelanta el inicio de la estación reproductiva e incrementa la secreción de FSH en determinados momentos del tratamiento (días 1 y 11), sin afectar a la secreción de LH. Se ha hipotetizado que, aunque la administración de este antagonista estimula el desarrollo folicular en yeguas en anestro estabuladas, dicho tratamiento es inefectivo en yeguas sometidas a fotoperiodo natural (Daels y cols., 1998). De hecho, la administración de sulpirida durante un

periodo de 21 días en yeguas comenzando con un tamaño folicular de 25 mm de diámetro induce avance significativo de la ciclicidad en yeguas no estimuladas fotoperiódicamente (Panzani y cols., 2011).

Estos efectos de los antagonistas de la DA vienen determinados por la presencia de receptores dopaminérgicos D1 y D2 a nivel ovárico. La expresión de receptores D2 en la corteza ovárica se incrementa durante el anestro frente a los periodos cíclicos. A nivel de las células de la granulosa, dichos receptores no varían entre las fases folicular y luteínica del ciclo estral ni son dependientes del tamaño folicular. Sin embargo, la expresión de receptores para la FSH (FSHr) aumenta en los folículos más pequeños (<30 mm) respecto a los de mayor tamaño (> o = 30 mm), aunque declina en anestro a nivel de la corteza ovárica. Por tanto, las diferencias en la eficacia de los antagonistas de la DA se relacionan con la presencia o ausencia de receptores para la FSH en ovarios funcionales y con la secreción de FSH en yeguas anéstricas, debido a la relación inversa temporal existente entre ambos tipos de receptores (D2 y FSHr) durante la temporada reproductiva, indicando una mayor expresión de receptores D2 durante el anestro (King y cols., 2005; 2008).

En yeguas intactas, Guillaume y cols. (2003) mostraron que inyecciones repetidas de sulpirida inducían la lactación tras el parto frente a yeguas ovariectomizadas, en las que las concentraciones de PRL y la actividad lactogénica declinaban substancialmente. Las concentraciones de P₄ y estrógenos, así como la producción diaria de leche, indican que los esteroides son necesarios para la inducción de la lactación en yeguas tratadas con antagonistas de la DA D2.

McCue y cols. (1999) expresaron que la utilización diaria de domperidona (antagonista dopaminérgico D2) a partir del 15 de enero una vez finalizado el anestro invernal no fue efectiva para adelantar la primera ovulación del año. Estos últimos investigadores sugirieron la influencia de ciertas condiciones climáticas como la temperatura y el momento del ciclo reproductivo (anestro profundo o transicional) en la eficacia de este tipo de antagonistas sobre la actividad ovárica. Por el contrario, Brendemuehl y Cross (2000) utilizando el mismo esquema diario hasta la primera ovulación del año revelaron incremento del número de folículos superiores a 20 mm diámetro, ovulaciones más tempranas, niveles superiores de PRL, LH y estrógenos conjugados a los 28 días del inicio del tratamiento. No obstante, aunque la incubación de células ováricas con agonistas D1 aumenta la secreción de P₄ en animales de experimentación, ni la bromocriptina ni la domperidona, agonista y antagonista D2 respectivamente, modifican la secreción (Mori y cols., 1994). Finalmente, en poneis anéstricos el uso diario de perfenacina induce incremento del crecimiento folicular y la ovulación, mientras que la bromocriptina retrasa el tamaño y

crecimiento de los folículos preovulatorios, en ausencia de alteraciones en el momento de la ovulación (Bennett-Wimbush y cols., 1998).

En équidos, también se han investigado los efectos que ejercen los antagonistas de los receptores dopaminérgicos a nivel GI, renal, adenoma de la pars intermedia hipofisaria, flujo sanguíneo microvascular del casco, así como la intoxicación por festuca en yeguas gestantes. La domperidona a dosis de 5 mg/kg incrementa el vaciado gástrico, mientras que a 1,1 mg/kg no se afecta el tiempo de tránsito, la frecuencia y/o cantidad de defecación y humedad de las heces. Estas evidencias sugieren que la domperidona no altera las actividades contráctiles de las fibras musculares longitudinales y circulares del duodeno, yeyuno, íleon y colon. A pesar de ello, la actividad contráctil de las fibras musculares longitudinales hacia la mitad del yeyuno, disminuye con este tipo de fármacos (Nieto y cols., 2013). El tratamiento con el agonista bromocriptina inhibe la estimulación de la actividad $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$ mediada por la angiotensina II sobre los túbulos renales proximales (Hussain y cols., 1998), aunque promueve el flujo sanguíneo renal y la producción de orina sin modificaciones en la excreción fraccional de sodio y potasio (Geor, 2007).

La enfermedad de Cushing o disfunción de la pars intermedia hipofisaria (PPID) se relaciona con la degeneración de las neuronas dopaminérgicas hipotalámicas como resultado del estrés oxidativo asociado a la edad (McFarlane y cols., 2003; Spelta, 2015). Los signos clínicos incluyen hirsutismo, polidipsia, poliuria, aumento del catabolismo de proteínas (disminución de la masa muscular), intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina, supresión del sistema inmune y letargia (Johnson, 2002). En condiciones fisiológicas los melanotrofos ubicados en la pars intermedia, sintetizan el precursor de tipo proteico, la proopiomelanocortina (POMC), que por acción enzimática de la convertasa I es procesado a ACTH, y por acción de la convertasa II es transformado en péptidos activos derivados de la POMC como, péptidos β relacionados a endorfinas (β -END), α -hormona estimulante de los melanocitos (α -MSH) y péptido intermedio similar a la corticotrofina (CLIP) (Haritou y cols., 2008) y ACTH (Orth y cols., 1982). La degeneración de las neuronas dopaminérgicas conlleva a la falta de inhibición dopaminérgica e incremento de la producción de estos péptidos (McFarlane y cols., 2003; Spelta, 2015). Así, en équidos afectados se alcanzan niveles de DA inferiores al 80% de los presentes en animales sanos (Millington y cols., 1988). Muchos de los animales afectados desarrollan laminitis y enfermedad sistémica especialmente durante la estación otoñal. El tratamiento incluye la administración de agonistas de la DA (pergolide), antiinflamatorios no esteroideos y vasodilatadores periféricos si se presenta laminitis (Hood, 1999), entre otros, mejorando los signos clínicos y bioquímicos asociados a la patología. Aunque la administración de DA y sus agonistas decrece las concentraciones de POMC (Orth y cols. 1982), la mejora de los signos clínicos asociados a la

enfermedad es variable (Donaldson y cols., 2001; Perkins y cols., 2002). De hecho, la domperidona agrava la pérdida de inhibición dopaminérgica y aumenta la liberación de ACTH endógena por parte de los melanotrofos (Miller y cols., 2008).

Por otro lado, la administración oral de domperidona a dosis de 1,1 mg/kg y 5,5 mg/kg aumenta significativamente el flujo sanguíneo microvascular laminar, iniciándose 4 horas después de la administración, con persistencia durante al menos 8 horas. Por vía intravenosa y a concentraciones más bajas (0,2 mg/kg) induce el mismo efecto, aunque el inicio de la respuesta es más tardío (10-12 horas). Estas observaciones sugieren el efecto beneficioso de la domperidona sobre la prevención de la vasoconstricción y la reducción del flujo sanguíneo microvascular laminar en situaciones de laminitis (Castro y cols., 2010).

En yeguas que pastorean en terrenos ricos en *Acremonium coenophialum*, un hongo endófito que crece en el tallo, hojas, vainas y semillas de la festuca (*Neotyphodium coenophialum*), el alcaloide ergopeptina y principalmente, la ergovalina, parece ser el responsable de la mayoría de las anomalías asociadas a la toxicosis en yeguas gestantes. Entre los síntomas que caracterizan el cuadro clínico destacan aumento de la duración de la gestación, aborto, nacimiento de potros débiles o muertos, agalactia, engrosamiento y retención placentaria e infertilidad (Ireland y cols., 1991; Schmitz, 2004). La agalactia se produce en primer lugar, debido al efecto agonista de los receptores dopaminérgicos D2 producido por la ergopeptina, ya que la DA es el mayor inhibidor de la secreción de PRL. En segundo lugar, los ergoalcaloides inhiben la secreción de ACTH, reduciendo el CORT fetal, con subsecuentemente reducción de la secreción de P₄ placentaria. En tercer lugar, estos alcaloides reducen la unión de los estrógenos al tejido, elevando los niveles séricos de estradiol (E₂), que normalmente suelen declinar cerca del parto. La interacción entre la PRL, P₄ y E₂ juega un papel importante en la preparación de la glándula mamaria para la lactación. Los niveles reducidos de PRL y P₄ y elevados de E₂ inducen agalactia, impidiendo el desarrollo de la glándula mamaria. El periodo de gestación puede prolongarse debido al bloqueo de la CRH fetal por parte de la ergopeptina, resultando en la falta de producción de ACTH y CORT fetal. Debido a que el CORT fetal actúa como señal desencadenante del parto, la falta de CRH, ACTH y CORT contribuye a la prolongación del período gestacional en las yeguas afectadas. Se hipotetiza que las anomalías placentarias se asocian con vasoconstricción, edema, fibrosis y degeneración mucoide de las arterias placentarias secundarias a anoxia (Schmitz, 2004). La administración de bromocriptina (agonista dopaminérgico D2) en ponies al final de la gestación provoca descenso de las concentraciones plasmáticas de PRL y P₄ e induce signos clínicos similares a este tipo de intoxicación (Ireland y cols., 1991). La administración de domperidona (1,1 mg /kg vía oral, una vez al día) durante los últimos 15 días de gestación

favorece con eficacia el desarrollo de la ubre y la lactación. Tras el parto, la misma dosis de domperidona, aunque administrada dos veces al día durante varios días consecutivos, estimula la producción de leche (Schmitz, 2004).

2.1.3.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DE LA DOPAMINA

2.1.3.2.1.-RAZA

La raza es uno de los factores que altera las concentraciones de DA. De hecho, en caballos PRá, los niveles de DA antes y después de la realización del ejercicio físico fueron superiores a los de PSI, sugiriendo la existencia de variaciones dopaminérgicas asociadas a la raza (Podolak y cols., 2006). Diversas investigaciones recientes han revelado diferencias raciales en el gen que codifica el receptor de DA D4 (DRD4), relacionado al mismo tiempo con cambios de temperamento en el caballo. Existen dos tipos de polimorfismos: SNPs y VNTR en la región exon3, específicos de cada raza. Además, la frecuencia del alelo G292A asociado con el temperamento, es diferente entre los caballos japoneses nativos y PSI. La frecuencia del alelo A que se asocia con baja curiosidad y alta vigilancia, fue inferior en caballos japoneses nativos que en PSI. De hecho, el caballo Kiso es más curioso y amistoso con los humanos que el PSI (Mukoyama y cols., 2009). Estas diferencias sugieren un efecto racial de los receptores dopaminérgicos sobre el temperamento o rasgos comportamentales, sin menoscabo en las diferencias que pudiesen existir entre los sistemas de reproducción o localización geográfica.

2.1.3.2.2.-EDAD

El avance de la edad disminuye los niveles neuronales de DA en seres humanos (Robinson, 1975) y animales de experimentación (Estes y Simpkin, 1984). En yeguas, los niveles cerebrospinales de dicha neurohormona se incrementan en hembras prepúberes frente a las adultas (Melrose y cols., 1990). Es importante hacer referencia nuevamente al PPID o Síndrome Cushing en relación a la edad en équidos. Aunque esta patología se presenta en el 10% de los équidos mayores de 20 años, este porcentaje puede ser superior en animales con edades comprendidas entre 20 y 35 años (Brosnahan y Paradis, 2003). En animales con PPID el avance de la edad provoca alteraciones en los sistemas dopaminérgicos y serotoninérgicos, con reducción substancial de las concentraciones plasmáticas de DA y 5-HT (McFarlane, 2006; Haritou y cols., 2008; McFarlane y Holbrook, 2008). Según McFarlane y cols. (2005) el número de terminales nerviosas dopaminérgicas en la pars intermedia periventricular y cuerpos celulares asociados al hipotálamo disminuye en caballos con PPID, respecto a animales sanos de la misma edad. Por

tanto, esta patología es principalmente una enfermedad neurodegenerativa dopaminérgica y no el resultado del adenoma pituitario producido espontáneamente, como se había hipotetizado (McFarlane y Holbrook, 2008). La etiopatogenia de la neurodegeneración dopaminérgica no está clara, pero en seres humanos y roedores existen varios factores relacionados como, estrés oxidativo, deterioro mitocondrial, inflamación y acumulación neuronal de proteínas mal plegadas (α -sinucleína) (Dauer y Przedborski, 2003). En équidos con PPID también se han encontrado acumulación de marcadores indicadores de estrés oxidativo y α -sinucleína en las terminales nerviosas de la pars intermedia, sugiriendo un mecanismo de neurodegeneración dopaminérgica similar (Saiardi y Borrelli, 1998). En seres humanos, los receptores D2 disminuyen con el avance de la edad en individuos sanos en sincronía con el declive del sistema neuronal nigroestriatal dopaminérgico presináptico (Shohamy y Wimmer, 2013; Paladini y Roeper, 2014). Este descenso neuronal probablemente contribuye a los déficits funcionales cognitivos y del control motor, así como a una mayor probabilidad de desarrollar otros trastornos neurodegenerativos, como sucede en la enfermedad de Parkinson, caracterizada por la pérdida acelerada de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra (Shohamy y Wimmer, 2013).

2.1.3.2.3.-ESTACIONALIDAD

El ingreso de DA en la hipófisis varía con la estación del año. Así, las concentraciones de DA en el líquido cefalorraquídeo son mínimas en verano, medias en otoño e invierno, y máximas en anestro invernal (Melrose y cols., 1990; Case, 2010). Este patrón no se mantiene en hembras ovariectomizadas, lo cual sugiere la influencia de las gónadas sobre la estacionalidad dopaminérgica (Melrose y cols., 1990). Haritou y cols. (2008) mostraron variaciones estacionales en caballos con síndrome de Cushing, con descenso de los niveles plasmáticos durante los meses de primavera y principio de otoño. Un patrón similar ha sido descrito en seres humanos (Eisenberg y cols., 2010) y animales de experimentación (Venero y cols., 2002), en los que además la melatonina induce selectivamente la expresión de la enzima TH, estimulando la producción de DA en diversas localizaciones cerebrales. Así, la máxima secreción de DA se produce en épocas de cortos fotoperiodos y con mayor secreción de melatonina (Eisenberg y cols., 2010). No obstante, la interacción entre la melatonina y el sistema dopaminérgico es compleja, presentando acciones tanto estimuladoras (Venero y cols., 2002) como inhibitorias (Zisapel, 2001) sobre la producción de DA.

2.1.3.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS

En yeguas, sementales y caballos castrados PSI se han detectado concentraciones plasmáticas medias de DA de $24,4 \pm 19,2$ pg/ml (Beadle y cols., 1982). Posteriormente, Podolak y cols. (2006) registraron niveles plasmáticos superiores en équidos de la misma raza y árabes ($42,89$ pg/ml y $96,5$ pg/ml), respectivamente.

2.1.3.4.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN

En la yegua no existen antecedentes bibliográficos sobre los niveles y el papel que desempeña la DA durante la gestación, si bien, la administración de agonistas de receptores dopaminérgicos en poneis al final de la gestación provoca descenso de las concentraciones de PRL y P_4 e induce signos clínicos similares a los producidos por la intoxicación por festuca (Ireland y cols., 1991). Por el contrario, el uso de antagonistas dopaminérgicos favorece el desarrollo de la ubre y la lactación al final de la gestación y durante el periodo postparto (Schmitz, 2004).

Sin embargo, en mujeres y animales de experimentación se han evaluado las implicaciones de dicho neurotransmisor en patologías gestacionales como, preeclampsia, retardo en el crecimiento uterino, depresión y alteraciones motoras fetales. En mujeres sanas los niveles plasmáticos de DA descienden con el avance de la gestación (Li y cols., 1999; Wang y cols., 1999; Shetty y Pathak, 2002) debido a la reducción de la DA placentaria. En relación a estos hechos, O'Shaughnessy y cols. (1983) propusieron que la gestación representa un estado fisiológico de denervación adrenérgica funcional uterina, con incremento de la actividad tisular del sistema nervioso adrenérgico y dopaminérgico en pacientes con preeclampsia y retardo en el crecimiento intrauterino.

Un estudio comparativo entre mujeres ingravidas, gestantes normotensas a término e hipertensas reveló que las ingravidas poseían mayor actividad enzimática que las hipertensas (Ramana y Prema, 1983). Estas observaciones contrastan con las mostradas posteriormente por Perdomo y cols. (2012). De hecho, en normotensas, la actividad de la DBH, encargada de la conversión de DA en NORADR, y las concentraciones de NORADR en sangre de la arteria y vena umbilical decrecen respecto a las hipertensas. En la arteria umbilical, los niveles de NORADR alcanzan cifras 5 veces superiores a las de la sangre materna, con valores 3 veces superiores en la actividad de la DBH en mujeres hipertensas con complicaciones de retraso del crecimiento intrauterino o sufrimiento fetal, sugiriendo que la hipertensión materna puede estar relacionada con el aumento de excitabilidad en el SNS fetal (Perdomo y cols., 2012). De hecho, en animales de experimentación, los embriones mueren en útero en madres con deficiencia genética de DBH

(Sénard y Rouet 2006). Adicionalmente, en mujeres gestantes con depresión, el descenso de los niveles de DA conlleva mayor riesgo de alteraciones cognitivas y temperamentales en la descendencia (Field y cols., 2008).

En seres humanos se conoce ampliamente que la DA desarrolla importantes funciones a nivel motor y cognitivo, participando en el desarrollo fetal en etapas muy tempranas de la gestación. De hecho, las neuronas dopaminérgicas están presentes a las 6-8 semanas de gestación en fetos humanos (Sundstrom y cols., 1993) y aves, en los que comienza a sintetizarse el segundo día de incubación (Herlenius y Lagercrantz, 2001). De ahí que alteraciones en la formación de las vías dopaminérgicas durante el crecimiento fetal conlleven al desarrollo de patologías motoras como, disquinesia, tics y movimientos oculares anormales, y psicológicas, que incluyen esquizofrenia, autismo y trastornos obsesivos compulsivos (Herlenius y Lagercrantz, 2001; Guillin y cols., 2007).

La DA se eleva en la placenta a nivel del citotrofoblasto durante el primer trimestre de gestación (Zhu y cols., 2002), mientras que en el fluido amniótico se manifiesta a término, alcanzando niveles máximos con el inicio del proceso físico del parto. Dicho incremento de DA se produce de forma simultánea al descenso de la secreción hipofisaria de PRL (Tada y cols., 1991). Los elevados niveles plasmáticos presentes en circulación umbilical, que llegan a duplicar los presentes en mujeres ingravidas sugieren el origen fetal de la DA presente en el fluido amniótico y sus efectos sobre las etapas finales del desarrollo fetal y el inicio del parto (Ben-Jonathan y cols., 1980). Adicionalmente, la DA sintetizada por la placenta inhibe la secreción de lactógeno placentario a partir de las células trofoblásticas vía receptores dopaminérgicos D2 (Kim y cols., 1997; Vaillancourt y cols., 1997), que estimula la producción de IGF-1 y modula el metabolismo intermediario, garantizando la disponibilidad de glucosa y aminoácidos necesarios para el crecimiento fetal (Handwerger y Freemark, 2000). En animales de experimentación el lactógeno placentario sustituye a la PRL como principal factor luteotrópico a partir de la mitad de la gestación en respuesta al efecto inhibitorio de las neuronas dopaminérgicas sobre la secreción hipofisaria de PRL. No obstante, al final de la gestación la hiperprolactinemia contribuye al desarrollo de la glándula mamaria, producción de leche y desarrollo del comportamiento maternal. Entre los factores que contribuyen al mantenimiento de la hiperprolactinemia destacan la supresión de la actividad dopaminérgica y la falta de sensibilidad de los receptores dopaminérgicos a la PRL y al lactógeno placentario (Andrews y cols., 2001; Lonstein y cols., 2003). De hecho, en animales de experimentación, las variaciones de DA en determinadas áreas cerebrales se asocian con comportamientos maternos como la limpieza de las crías y la

construcción del nido (Lonstein y cols., 2003), mientras que en ovejas se ha observado un incremento en la liberación de DA durante el periodo postparto (Kendrick y cols., 1992).

Además, los receptores dopaminérgicos en la decidua materna están relacionados con la síntesis de PG y contracciones uterinas asociadas al proceso físico del parto (Arai y cols., 2000; Holzman y cols., 2009). De hecho, la infusión de DA en mujeres gestantes a término provoca un incremento de las contracciones uterinas (Urban y cols., 1982). No obstante, la exposición prenatal a los agonistas de la DA puede estar asociada con un mayor riesgo de pérdidas gestacionales y parto prematuro (Hurault-Delarue y cols., 2014).

2.2.-HORMONAS HIPOFISARIAS

2.2.1.-HORMONA ADRENOCORTICOTROPA

La ACTH es un polipéptido sintetizado mayoritariamente por las células corticotropas de la hipófisis anterior, y en menor medida, en el cerebro, médula adrenal, piel y placenta (Vrezas y cols., 2003; Bicknell, 2008; Evans y cols., 2012). La hipófisis anterior o pars distalis, está integrada por distintas poblaciones celulares, destacando las células somatotropas (20-30%) y corticotropas (20%) secretoras de GH y ACTH, respectivamente (Guyton y Hall, 2006).

La producción de ACTH tiene lugar a partir de la POMC, precursor común de otros péptidos hipofisarios sintetizados en la pars intermedia (MSH, β -lipotropinas, β -endorfinas y CLIP) (Guyton y Hall, 2006; Margioris y Tsatsanis, 2011; Spelta, 2015). En general, la actividad de esta porción hipofisaria se encuentra controlada por el factor inhibidor de liberación de somatotropina o somatostatina (SRIF), factor de origen hipotalámico y potente inhibidor de la secreción de GH. Aunque su efecto sobre la ACTH no se conoce íntegramente, parece depender del tipo de receptor específico al que se une y de los niveles circulantes de CORT, permitiendo estimular o inhibir su producción (Hofland, 2008; Eigler y Ben-Shlomo, 2014). La síntesis y secreción de ACTH está regulada por la CRH y minoritariamente, por la arginina vasopresina (AVP), ambas de procedencia hipotalámica (Margioris y Tsatsanis, 2011). De esta forma, en ausencia de CRH la hipófisis secreta mínimas cantidades, mientras que la mayoría de condiciones que provocan aumento en la tasa de secreción de ACTH conllevan a la producción de CRH (Raff y Findling, 2003; Guyton y Hall, 2006). El estrés físico o mental, diversos neurotransmisores y citoquinas como la acetilcolina, NORADR, histamina, 5-HT, interleucinas y factor de necrosis tumoral (TNF) provocan la secreción hipotalámica de CRH, que una vez liberada en el plexo capilar primario del sistema portal, alcanza la hipófisis anterior e incrementa la producción y secreción de ACTH a través de los receptores tipo 1 del CRH (CRH-R1) (Lim y cols., 2014). A nivel periférico, la falta de carbohidratos

en situaciones de estrés celular estimula la secreción de ACTH y CORT, cuyos efectos metabólicos tienen como objetivo promover la gluconeogénesis mediante movilización proteica, aunque los mecanismos implicados no se conocen completamente (Guyton y Hall, 2006).

La AVP también favorece la secreción de ACTH a través de la activación de los receptores V1b presentes en las células corticotropas (Aguilera, 1998). En équidos, la hormona liberadora de tirotropina (TRH) incrementa la liberación de ACTH y MSH a través de los receptores TRH-R1 localizados en la pars distalis e intermedia (McFarlane y cols., 2006; Beech y cols., 2007). Otros péptidos y hormonas pueden favorecer la producción de ACTH mediante interacciones sinérgicas con la CRH, como la angiotensina II y el péptido intestinal vasoactivo, así como con la AVP como, la ghrelina (Lim y cols., 2014). La 5-HT modula la secreción de CRH y ACTH, actuando a nivel hipotalámico e hipofisario, respectivamente (Jorgensen, 2007). La oxitocina puede inhibir o provocar la liberación de ACTH compitiendo con la AVP por su unión al receptor, o potenciando la acción de la CRH sobre las células corticotropas, respectivamente (Lim y cols., 2014). Las catecolaminas exógenas y endógenas también pueden promover la secreción de ACTH alcanzando la hipófisis anterior a partir de la circulación sistémica tras la secreción adrenal (Axelrod y Reisine, 1984), vía circulación portal a partir del hipotálamo (Gibbs, 1985), a través de la inervación simpática de la propia glándula (Al-Damluji, 1993) o circulación intrahipofisaria (Plotsky y cols., 1989). Por último, el CORT constituye el principal inhibidor de la síntesis de ACTH tanto a nivel hipotalámico como hipofisario, actuando sobre la expresión y secreción de la CRH y la AVP, la transcripción de POMC y la producción de ACTH en las células corticotropas (Lim y cols., 2014). Otros factores como la DA y los péptidos opiáceos, también pueden inhibir la secreción de ACTH (Lim y cols., 2014; Martin y Crump, 2003).

La piel constituye un órgano esencial en el mantenimiento de la homeostasis, ya que se encuentra expuesta continuamente a factores estresantes como, la luz solar y la temperatura. Los melanocitos expresan POMC, CRH, ACTH y CORT, desarrollando una respuesta local al estrés equivalente a la del eje HHA a nivel sistémico (Slominski y cols., 2005).

La α -MSH y sus 5 tipos de receptores específicos (MCR1-5) unidos a proteína G, transmiten las señales de los péptidos derivados de la POMC y por tanto, de la ACTH. Este sistema interviene en la regulación de diversas funciones fisiológicas como, el mantenimiento de la homeostasis energética y metabolismo, esteroidogénesis adrenal, actividad reproductiva, pigmentación e inflamación (Cone, 2006; Lantang y cols., 2015). Concretamente, el receptor 2 de la melanocortina (MCR2) se expresa en las células adrenocorticales de la zona fascicular y reticular y, en menor grado en la piel y tejido adiposo, mostrando una exclusiva afinidad por la ACTH, aunque también puede ser reconocida por otros receptores (Ellias y Clark, 2000). Adicionalmente, las células del

epitelio glandular y del estroma uterino, las células endoteliales y la musculatura lisa vascular expresan este tipo de receptores, implicándose en la síntesis de secreciones uterinas y en las adaptaciones vasculares durante el ciclo estral y la gestación (Lantang y cols., 2015).

2.2.1.1.-EFECTOS DE LA HORMONA ADRENOCORTICOTROPA

Una vez liberada a circulación sistémica, la ACTH se une a su receptor específico localizado primariamente en la superficie de las células adrenocorticales y la piel. Sobre la glándula adrenal induce incremento de la cortisolemia, a la vez que aumenta el flujo sanguíneo, favoreciendo el aporte de oxígeno y nutrientes, la eliminación de sustancias de desecho y el intercambio hormonal (Martin y Crump, 2003; Guyton y Hall, 2006). Es importante resaltar que el tejido adrenal depende íntegramente de la ACTH para su desarrollo y mantenimiento durante la vida adulta. De hecho, la ACTH regula la tasa de apoptosis de las células adrenocorticales y ejerce efectos tróficos indirectamente mediante la síntesis de factores locales como los IGFs y el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), que favorecen la diferenciación de las células adrenocorticales y promueven la esteroidogénesis y angiogénesis, respectivamente (Martin y Crump, 2003; Thomas y cols., 2004). La estimulación a largo plazo de la corteza adrenal por parte de la ACTH incrementa la actividad secretora y causa hipertrofia y proliferación de las células adrenocorticales, especialmente de las zonas fascicular y reticular, en las que se sintetiza el CORT y los andrógenos de forma respectiva, sin alteraciones en la zona glomerular encargada de la producción de aldosterona (Guyton y Hall, 2006). De forma contraria, bajos niveles de ACTH sostenidos en el tiempo llevan a atrofia y/o insuficiencia adrenal, como sucede en las terapias prolongadas con corticosteroides (Raff y Finding, 2003), relacionándose con una mayor tasa de apoptosis y regresión de la red vascular debido a una menor expresión de VEGF por las células adrenales (Thomas y cols., 2004). La ACTH incrementa la tasa de transporte de colesterol a la membrana mitocondrial en las células adrenocorticales, lugar en el que tiene lugar la conversión de colesterol en pregnenolona (P_5), iniciándose la cascada de reacciones enzimáticas que intervienen en la síntesis de las hormonas adrenocorticales, CORT, andrógenos y aldosterona (Guyton y Hall, 2006). Aunque la ACTH no ejerce un efecto directo sobre la secreción de aldosterona, su presencia es necesaria para el mantenimiento de niveles de dicho mineralocorticoide, ya que la ausencia de ACTH disminuye su liberación (Guyton y Hall, 2006).

La ubicuidad del receptor MCR2 y la capacidad de la ACTH para interactuar con otros receptores de la misma familia, hace posible su implicación en otros procesos fisiológicos como la regulación de la ingesta, el balance energético, la función inmunitaria y las propiedades de la piel

(Marglioris y Tsatsanis, 2011). Parte de la secuencia de aminoácidos de la ACTH es similar a la MSH, de forma que puede intervenir en la producción de melanina por parte de la piel.

Por otro lado, la ACTH puede actuar sobre el tejido adiposo estimulando la lipólisis de triglicéridos y la movilización de ácidos grasos, inhibiendo a su vez la expresión de leptina a través de los receptores MCR2 y MCR5 (Norman y cols., 2003; Guyton y Hall, 2006; Moller y cols., 2011). La ACTH también puede aumentar la producción de colágeno mediante los receptores MCR2 presentes en los osteoblastos, favoreciendo la proliferación y formación ósea (Isales y cols., 2010; Zoflova y Matucha, 2014). La interacción ACTH-MC2R mejora el daño celular en enfermedades renales (Si y cols., 2013), promueve la proliferación celular *in vitro* de las células prostáticas (Hafiz y cols., 2012) y la producción de andrógenos por parte de las células de Leydig (Johnston y cols., 2007). La estimulación de los receptores MCR1 y MCR3, ejerce marcados efectos antiinflamatorios e inmunomoduladores, inhibiendo la migración celular y la actividad de las citoquinas. De hecho, en humanos, la ACTH se utiliza eficazmente en el tratamiento de la artritis reumatoide, entre otros procesos (Catania y cols., 2010).

En el sistema cardiovascular, la ACTH incrementa la presión sanguínea de forma adrenal-dependiente, es decir, a través de la secreción de CORT. Aunque los receptores para la ACTH se expresan en las células endoteliales de la arteria aorta en seres humanos (Hatekeyama y cols., 2000), parece poco probable su implicación en la hipertensión (Whitworth y cols., 2005).

La ACTH puede ejercer efectos inhibitorios o estimuladores sobre la actividad reproductiva en función del tiempo de exposición y la sensibilización previa a los estrógenos. De hecho, en animales de experimentación, la estimulación crónica con ACTH inhibe la secreción de LH, el desarrollo folicular y la ovulación (MacFarland y Mann, 1977; Mann y cols., 1985), mientras que de forma aguda, favorece la secreción de FSH, LH, el comportamiento sexual y la ovulación (Baldwin y cols., 1974). En la yegua, la administración de ACTH conlleva al incremento plasmático de androstenediona (A_4) y testosterona (T), si bien, la respuesta es superior en yeguas intactas frente a ovariectomizadas, implicando efectos ováricos y adrenales (Hedberg y cols., 2007, a, b). Durante la gestación, se describe un incremento de tamaño de la hipófisis anterior de al menos un 50%, aumentando la producción de ACTH, TSH y PRL (Guyton y Hall, 2006).

2.2.1.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DE LA HORMONA ADRENOCORTICOTROPA

2.2.1.2.1.-RAZA

El papel de la raza sobre los niveles plasmáticos de ACTH en équidos está sometido a controversia. Así, mientras que Fazio y cols. (2016) no han revelado diferencias significativas entre

caballos de silla italianos (Sanfratellano) y húngaros (Gidran), ni entre sementales PSI y cruzados, en ponies se alcanzan medias inferiores a las de otras razas equinas. Este hecho se atribuye a las diferencias metabólicas en las vías lipídicas y glucídicas (Couetil y cols., 1996) y a la mayor susceptibilidad a las variaciones estacionales, probablemente debido a su naturaleza más rústica y al metabolismo más eficiente que los dota de una mayor habilidad para sobrevivir ante condiciones ambientales adversas (Beech y cols., 2009; McFarlane y cols., 2005). No obstante, no todos los estudios confirman estas variaciones (McFarlane y cols., 2011).

2.2.1.2.2.-EDAD

La edad se correlaciona positivamente con los niveles plasmáticos de ACHT en animales de experimentación, cánidos y équidos, observándose además mayor respuesta a la CRH y menor sensibilidad del eje HHA a la dexametasona (Gust y cols., 2000, Donaldson y cols., 2005; Köller y cols., 2016). Como consecuencia se produce una pérdida de adaptabilidad a factores fisiológicos de estrés (Lipsitz y Goldberger, 1992; Vaillancourt y Newell, 2002) que afecta a los sistemas cardiovascular, inmunitario, muscular y endocrino (Cordero y cols., 2012). De hecho, en équidos, la senectud se asocia con el deterioro de la función inmune, observándose disminución en la respuesta linfoproliferativa ante mitógenos *in vitro* (Horohov y cols., 2002; McFarlane y cols., 1998), y mayor susceptibilidad al desarrollo de laminitis crónica, debido a los efectos de los corticoides sobre el tono vascular y el metabolismo glucídico (Pass y cols., 1998; French y cols., 2000). No obstante, otros estudios no muestran modificaciones en los niveles de ACTH asociadas a la edad (Murray y cols., 1996; Fazio y cols., 2008).

2.2.1.2.3.-RITMOS CIRCADIANOS

La secreción de ACTH presenta un ritmo circadiano traduciéndose en altas concentraciones plasmáticas alrededor de las 8:00 horas, y descenso gradual a lo largo del día (Rendle y cols., 2014). Sin embargo, factores individuales, el patrón de secreción pulsátil y las fluctuaciones diurnas en la sensibilidad adrenal a la ACTH podrían enmascarar la ritmicidad (Cordero y cols., 2012). De hecho, Díez de Castro y cols. (2014) no revelaron variaciones significativas entre las 8:00 y las 20:00 horas en équidos. Aunque la liberación a circulación portal hipofisaria se produce en forma de 2 a 4 pulsos por hora (Alexander y cols., 1988; Cudd y cols., 1995), las concentraciones circulantes suponen únicamente un 2% del total lo cual dificulta la detección de los pulsos debido al efecto de dilución (Rendle y cols., 2014).

2.2.1.2.4.-ALIMENTACIÓN

Respecto a los valores basales ($17,1 \pm 1,8$ pg/ml) se producen incrementos plasmáticos postprandiales de ACTH a las 2 horas de la ingesta de alimento ($46,1 \pm 7,6$ pg/ml) (Díez de Castro y cols., 2014).

2.2.1.2.5.-ESTACIONALIDAD

Las variaciones estacionales en la actividad del eje HHA han sido descritas en numerosas especies, incluyendo seres humanos, roedores, ovinos, caprinos y cérvidos (Ingram y cols., 1999; Alila-Johansson y cols., 2003). En équidos, los niveles plasmáticos de ACTH se incrementan a medida que disminuye el fotoperiodo a partir del solsticio de verano, alcanzándose valores máximos durante el otoño (julio a octubre) y mínimos en los meses de marzo y abril (Place y cols., 2010; Cordero y cols., 2012; Copas y Durham, 2012; Díez de Castro y cols., 2014). Este patrón se relaciona con las modificaciones metabólicas y reproductivas necesarias para afrontar el invierno (Mesbah y Brudieux, 1982) en base a la menor disponibilidad de nutrientes en el pasto (Donaldson y cols., 2005). Además, la sensibilidad hipofisaria a la estimulación ejercida por la CRH y la TRH en carneros y équidos se incrementa en los tests realizados durante el otoño (Ssewanyana y cols., 1990; Funk y cols., 2011). Asimismo, la sensibilidad del eje HHA a la dexametasona decrece durante este periodo, lo que podría sugerir una menor respuesta al feedback ejercido por el CORT (Donaldson y cols., 2005). Tal vez esta respuesta pueda estar relacionada con el tamaño de la pars intermedia que incrementa sensiblemente durante el otoño, aunque se desconoce si es debido al mayor número de células o a la hiperplasia de las mismas, sin alteraciones en la pars distalis y nervosa (Cordero y cols., 2012).

2.2.1.2.6.-LATITUD

La localización geográfica afecta al inicio y la amplitud de la variación estacional de la ACTH. Así, McFarlane y cols. (2011) evidenciaron que los équidos residentes en Florida mostraban mayor incremento otoñal respecto a los que habitaban en Massachusetts, no observando modificaciones significativas en los équidos localizados en Finlandia. Estos mismos investigadores concluyeron que los animales que habitan en regiones más al sur muestran mayor amplitud y valor medio de ACTH en otoño frente a otras estaciones del año. Comparablemente, équidos residentes en regiones más alejadas del ecuador, como Finlandia, presentan acrofases otoñales más tempranas (McFarlane y cols., 2011).

2.2.1.2.7.-EJERCICIO FÍSICO

La actividad física aumenta notablemente la secreción de ACTH en el caballo. Esta respuesta es proporcional a la duración e intensidad del ejercicio (Kurosawa y cols., 1998; Marc y cols., 2000) y responde principalmente a la estimulación de la AVP cuyos niveles se incrementan en la circulación portal (Alexander y cols., 1991; 1996), en ausencia de modificaciones del CRH. A pesar de ello, estados de hipoglucemia asociados a ejercicio de larga duración elevan la CRH y la AVP y estimulan la actividad corticotropa (Alexander y cols., 1997). Los niveles de ACTH regresan a valores basales a los 30 minutos de finalizar el ejercicio (Alexander y cols., 1991). La ADR y NORADR presentan una respuesta similar, mostrándose una correlación positiva entre los componentes del eje SA y la ACTH (Kurosawa y cols., 1998).

2.2.1.2.8.-TRANSPORTE

El transporte constituye para el equino una situación de estrés, no sólo por el cambio de ambiente y el mantenimiento de posturas antinaturales, sino también por la concurrencia de otros factores potencialmente estresantes como hacinamiento, vibraciones, cambios de temperatura y humedad, ventilación inadecuada, espacio disponible y frecuentemente, privación de agua y alimento (Fazio y cols., 2008). El estrés induce activación del eje HHA con el consiguiente incremento de ACTH y CORT. Las condiciones de manejo influyen notablemente sobre la reacción al estrés, hallándose valores superiores en équidos asilvestrados (Fazio y cols., 2016) e inferiores en équidos transportados periódicamente (Schmidt y cols., 2010). De forma similar, el incremento de ACTH tras el transporte disminuye progresivamente a medida que aumenta la distancia (Fazio y cols., 2008).

2.2.1.2.9.-PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS

En seres humanos y cánidos los valores de ACTH se modifican según las condiciones de la toma y almacenamiento de las muestras (Hogan y cols., 1976; Hegstad y cols., 1990). La ACTH es adsorbida por las superficies de cristal y puede degradarse a través de las enzimas proteolíticas presentes en sangre entera y plasma (Hegstad y cols., 1990). En consecuencia, se recomienda recoger la muestra en tubos plásticos con EDTA como anticoagulante, separar el plasma inmediatamente, y almacenar en congelación durante máximo un mes. No obstante, la ACTH plasmática es estable en sangre entera a 19°C durante tres horas, tiempo máximo en el que debería separarse y almacenarse el plasma, para posteriormente ser almacenado a -20°C en tubos de polipropileno (Couetil y cols., 1996).

Adicionalmente, aunque algunos autores han cuestionado la validez de una única medición en la obtención de las concentraciones plasmáticas de ACTH (Dybdal y cols., 1994; Messer y Johnson, 2007) debido al patrón pulsátil, recientemente, Rendle y cols. (2015) han demostrado que la toma de muestras por duplicado a intervalos de 5-15 minutos no presenta beneficios adicionales.

2.2.1.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS

En un estudio llevado a cabo en 12 sementales y 12 yeguas, Ayala y cols. (2012) revelaron concentraciones plasmáticas medias de $23,18 \pm 3,2$ pg/ml, que quedaron comprendidas dentro de los rangos de referencia establecidos en otras investigaciones en équidos adultos sanos (9 y 35 pg/ml) (Couëtil y cols., 1996; Kurosawa y cols., 1998; Fazio y cols., 2009; Place y cols., 2010; Hemmann y cols., 2012). Estos niveles medios se incrementan durante los meses de agosto a octubre en relación a la estacionalidad (Copas y Durham, 2012). De hecho, Donaldson y cols. (2005) mostraron concentraciones plasmáticas de ACTH de 16,1 y 17,1 pg/ml en los meses de mayo y enero, frente a las detectadas en septiembre (49,5-60,5 pg/ml) en yeguas ingravidas.

2.2.1.4.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN

Los estudios que evalúan el patrón de secreción de la ACTH durante la gestación en la yegua son escasos y poco reveladores. Así, aunque los niveles plasmáticos de ACTH se incrementan durante la preñez, no difieren significativamente de los de hembras ingravidas (Donaldson y cols., 2005; Fazio y cols., 2001; 2009). En yeguas gestantes PSI, Fazio y cols. (2009) describieron concentraciones medias significativamente superiores en el mes de noviembre, frente a otros meses del año. Un estudio previo realizado por estos mismos investigadores había referido niveles superiores en el 8º y 9º mes de gestación respecto a hembras estériles, sin diferencias significativas en el resto del periodo gestacional entre ambos grupos de animales (Fazio y cols., 2001).

En mujeres gestantes, las investigaciones en este ámbito han reportado resultados contradictorios, describiéndose niveles superiores (Genazzani y cols., 1984) e inferiores a los de hembras ingravidas (Carr y cols., 1981; Mukherjee y Swyer, 1972). Además el perfil de este parámetro también se modifica notablemente durante la gestación, aunque con evoluciones diferentes. Así, aunque algunos estudios han detectado valores máximos a las 34 semanas con descenso significativo hacia el final de la gestación, otras investigaciones describen incremento

progresivo desde la semana 28 hasta el momento del parto, descendiendo posteriormente (Jeschke y cols., 2005; Ochedalski y cols., 2001; 2004; Klimek, 2005).

Si bien durante la gestación, las células del trofoblasto constituyen una fuente adicional de ACTH durante el segundo y tercer trimestre (Cooper y cols., 1996; Klimek y cols., 2005), el mecanismo fisiológico que provoca el incremento de ACTH no ha sido completamente elucidado. Tanto el aumento de sensibilidad a agentes estimuladores como la AVP y la CRH como la falta de sensibilidad al feedback ejercido por el CORT se han descrito como causas potenciales de esta respuesta (Lindsay y Nieman, 2005). De hecho, en animales de experimentación, la respuesta del eje HHA a la inhibición ejercida por la administración exógena de dexametasona es menor en hembras gestantes frente a ingravidas (Manojlovic-Stojanoski y cols., 2012). La CRH placentaria también podría estimular la secreción de ACTH a nivel hipofisario y placentario (Petraglia y cols., 1987; Sasaki y cols., 1989; Goland y cols., 1994), aunque el mantenimiento del ritmo pulsátil y las variaciones circadianas apuntan a la hipófisis como fuente predominante (Liotta y cols., 1977; Clemmons y cols., 1980). Sin embargo, el grado de incremento de ACTH durante la gestación cuyos niveles se mantienen dentro del rango fisiológico descrito en mujeres ingravidas, no se correlaciona con el marcado aumento de CRH, lo cual sugiere la participación de otros factores (Ochedalski y cols., 2001; 2004; Klimek, 2005). En relación a estos acontecimientos, Ochedalski y cols. (2001) mostraron incremento de ACTH superior en mujeres con parto inducido con oxitocina frente a las que parieron mediante parto natural, acompañado de niveles decrecientes de CRH. A diferencia de lo que ocurre en la mujer, las concentraciones de CRH en la yegua no se incrementan durante la gestación (Ellis y cols., 1994), por lo que parece poco probable la existencia de una fuente placentaria que intervenga en la regulación del eje HHA durante la gestación.

El incremento asociado al parto podría sugerir no sólo la respuesta fisiológica al estrés inducido por el propio mecanismo físico del parto, sino también modificaciones en la respuesta inmunitaria materna mediada por la ACTH, con incremento de macrófagos presentes en la placenta hacia el final de la gestación (Fukushima y cols., 2001; Klimek, 2005). En casos de aborto espontáneo, la actividad citotóxica conlleva la estimulación del eje HHA, con el consiguiente aumento de ACTH (Klimek y cols., 2005). Esta respuesta provoca una potente actividad inmunosupresora local (Reder, 1992; Stefano y Smith, 1996). En vacas, la producción linfocitaria de ACTH se incrementa desde el inicio de la gestación alcanzando niveles 600% superiores a los de ingravidas, existiendo una correlación positiva entre la ACTH y el óxido nítrico (NO). Estas evidencias sugieren que ambos factores linfocitarios podrían actuar sinérgicamente induciendo la inmunosupresión necesaria para el mantenimiento de la gestación mediante mecanismos auto y

paracrinos (Dixit y Parvizi, 2001). Por tanto, la ACTH actúa como un factor bifásico responsable de la comunicación entre el sistema neuroendocrino e inmunitario (Klimek y cols., 2005).

La alopregnanolona es un metabolito de la P_4 , modulador de la actividad del eje HHA durante la gestación. En animales de experimentación, la actividad de las enzimas que intervienen en su producción (5α -reductasa y 3α -HSD) se incrementa al final de la gestación. El incremento de este metabolito esteroideo inhibe la respuesta del eje HHA ante factores de estrés (Brunton y cols., 2009) e interviene en el mantenimiento de la inhibición opioide a nivel central, previniendo incrementos de CORT que puedan inducir el parto de forma prematura (Brunton, 2015). De hecho, en roedores la respuesta del eje HHA al estrés se atenúa a partir del día 15 de gestación (Neumann y cols., 1998) en respuesta a mecanismos hipofisarios e hipotalámicos (Douglas y cols., 1998). Asimismo, la respuesta de las células corticotropas a la CRH y su unión al receptor se encuentran disminuidas durante la gestación en esta última especie (Neumann y cols., 1998). Sin embargo, en la mujer y la oveja, se produce un aumento de sensibilidad adrenal a la ACTH circulante al final de la gestación (Wood y Keller-Wood., 1991; Atkinson y Waddell, 1995; Magiakou y cols., 1996). No obstante, la actividad de la enzima 11β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (11β -HSD) y la mayor capacidad de unión de la globulina captadora de CORT (CBG) protegen al feto del aumento prematuro de CORT (Douglas y cols., 2003).

Finalmente, algunos estudios han mostrado incremento de ACTH en mujeres con preeclampsia e hipertensión (Jeske y cols., 1990; Laatikainen y cols., 1991). De hecho, la infusión de ACTH en ovejas induce incremento de la volemia, de la presión arterial, del hematocrito, de los niveles de glucosa y lactato y disminución de potasio, efectos característicos del exceso de corticoides y mineralocorticoides (Lumbers y cols., 1998). Sin embargo, la relación existente entre la ACTH y el desarrollo de hipertensión no es defendida por todos los investigadores (Warren y cols., 1995).

2.2.2.-HORMONA DEL CRECIMIENTO

La hormona de crecimiento (GH), hormona somatotrófica o somatotropina es un polipéptido compuesto por 191 residuos de aminoácidos. En seres humanos se diferencian dos isoformas, la hGH, que se expresa en las células somatotropas de la hipófisis anterior y la hGH-V, localizada en la placenta. Aunque la hGH representa la mayor parte de la GH circulante, existen otras variantes con presencia y significación biológica aún por determinar. La GH se expresa en la corteza, hipocampo, núcleo caudado y área retinal a nivel cerebral, si bien, algunos tejidos periféricos que

incluyen la glándula mamaria, las células inmunitarias y los testículos pueden sintetizarla, ejerciendo en ellos efectos auto y paracrinos (Harvey y Hull, 1997; Lim y cols., 2014).

La mayor parte de GH circulante se encuentra unida a proteínas transportadores (GHBP), evitando oscilaciones bruscas de las concentraciones plasmáticas, además de actuar como reservorio, favoreciendo la prolongación de su vida media (De Graaf-Roelfsema y cols., 2007; Lim y cols., 2014).

Entre los múltiples factores que regulan la síntesis de GH se encuentra el factor hipotalámico liberador de GH (GHRH) y la SRIF de origen hipotalámico (Brazeau y cols., 1973; Guillemin y cols., 1982; Skottner, 2012). La GHRH se une a su receptor transmembrana asociado a la proteína G y activa la adenilato ciclasa, la cual estimula la transcripción del gen GH y su liberación. A pesar de su homología estructural con otros neuropéptidos como el glucagón o la secretina, la GHRH no altera la secreción de otros péptidos hipofisarios (Lim y cols., 2014). Por el contrario, la SRIF ejerce múltiples funciones. A nivel hipofisario inhibe la liberación de GH y TSH, suprimiendo la actividad de las células somatotropas y tirotropas, respectivamente. A nivel hipotalámico, antagoniza la secreción de GHRH, alterando indirectamente la producción de GH. En el tracto GI, inhibe la liberación de ghrelina gástrica y de glucagón, gastrina, secretina, péptido inhibidor gástrico (GIP), insulina y péptido intestinal vasoactivo (VIP) a nivel del páncreas (Norrelund y cols., 2002; Shimada y cols., 2003; Lim y cols., 2014). La ghrelina es un péptido orexigénico, expresado en estómago, hipotálamo e hipófisis anterior, capaz de estimular la liberación de GH, ACTH, insulina y PRL. Aunque algunos ensayos *in vitro* han mostrado que dicho péptido puede actuar directamente sobre las células somatotropas, la infusión *in vivo* requiere la actividad de la GHRH, ya que su neutralización bloquea la secreción de GH (Kojima y cols., 1999; Tannenbaum y cols., 2003).

Los niveles circulantes de GH y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) ejercen un efecto feedback negativo sobre la síntesis de GH, describiéndose un descenso plasmático que puede oscilar entre el 50 y el 80% tras la infusión de IGF-1 en seres humanos (Goldenberg y Barkan, 2007), aunque el GHRH y la SRIF son capaces de inhibir su propia secreción (Lim y cols., 2014). Otras sustancias endocrinas como, las catecolaminas, 5-HT, DA, leptina y los esteroides gonadales estimulan la secreción de GH (Veldhuis y cols., 2006; Kok y cols., 2008). De hecho, el tratamiento con T, estradiol (E₂) y P₄ en machos castrados o hembras ovariectomizadas, así como la administración de E₂ en novillas intactas, estimula la liberación de GH (Selman y cols., 1994; Aldrich y cols., 1996). Concretamente, los estrógenos favorecen la secreción de GHRH e incrementan la sensibilidad a la ghrelina de origen hipotalámico, reduciendo la respuesta de la GH y la síntesis hepática del IGF-1 (Kok y cols., 2008, Lim y cols., 2014). Las vías α o β adrenérgicas pueden aumentar la secreción de GH mediada por el GHRH o suprimir la SRIF, respectivamente.

Aunque los glucocorticoides tradicionalmente se han considerado como factores supresores del eje somatotrofo debido al aumento de la expresión de la SRIF, los efectos pueden ser variables en función de la concentración, duración a la exposición y el lugar de acción (Mazziotti y Giustina, 2013). Los opiodes endógenos parecen diferir entre especies, describiéndose acciones positivas sobre la secreción de GH en seres humanos (Moretti y cols., 1983), animales de experimentación (Riskind y cols., 1984), suidos (Trudeau y cols., 1988), y negativas en équidos (Aurich y cols., 1999). De hecho, la administración de naloxona, un antagonista opioide, incrementa los niveles circulantes de GH en yeguas intactas, sin modificaciones en yeguas ovariectomizadas (Aurich y cols., 1999). Adicionalmente, en seres humanos, la leptina, péptido anorexigénico expresado principalmente en la hipófisis y los adipocitos, modula la GH ejerciendo efectos positivos o negativos si el estímulo es a corto o a largo plazo, respectivamente (Saleri y cols., 2004; Skottner, 2012). De hecho, en caballos obesos hiperleptinémicos e hiperinsulinémicos se presentan niveles anormalmente reducidos de GH (Cartmill, 2004). Otros factores como el estrés, la hipoglucemia y la elevación de aminoácidos circulantes estimulan la secreción de GH, mientras que la hiperglucemia y la hiperlipemia la inhiben (Gunawardane y cols., 2015).

2.2.2.1.-EFECTOS DE LA HORMONA DEL CRECIMIENTO

En el hígado la GH estimula la síntesis y secreción de IGF-1 por parte de los hepatocitos, provocando múltiples efectos anabólicos y sobre el crecimiento (De Graaf-Roelfsema y cols., 2007; Skottner, 2012). La GH es esencial para el crecimiento postnatal, ya que induce aumento del tamaño celular y estimula la mitosis, favoreciendo el desarrollo y la diferenciación de ciertos tipos celulares como los osteocitos y los miocitos (Guyton y Hall, 2006) favoreciendo el crecimiento y la deposición de masa magra (Guyton y Hall, 2006). La GH aumenta la síntesis de proteínas en la mayoría de las células del organismo, reduce el catabolismo proteico y estimula la liberación de ácidos grasos a partir del tejido adiposo. Estas acciones permiten la obtención de energía a partir de las grasas, disminuyendo la ruta de los carbohidratos y la utilización de glucosa por parte del músculo y tejido adiposo. Dichos efectos unidos a la estimulación de la gluconeogénesis hepática conllevan al incremento de la glucemia e insulina (Hull y Harvey, 2006; De Graaf-Roelfsema y cols., 2007). Aunque se desconoce el mecanismo por el cual la GH induce resistencia a la insulina y la disminución de la utilización celular de glucosa, en ensayos experimentales el incremento de los ácidos libres circulantes reduce la sensibilidad hepática y muscular a la insulina sobre el metabolismo de los carbohidratos. La presencia de insulina y la disponibilidad de carbohidratos en la dieta son esenciales para mantener la actividad somatotropa ya que la insulina incrementa el transporte de aminoácidos al interior de la célula (Guyton y Hall, 2006).

En équidos, la administración exógena de GH provoca incremento significativo de IGF-1 e insulina, de forma similar a lo que acontece en animales de experimentación, en los que esta hormona estimula la proliferación de las células β -pancreáticas, y en consecuencia, la síntesis y secreción de insulina (De Kock y cols., 2001; Nielsen y cols., 2001). Asimismo, la GH incrementa la musculación y estimula el sistema inmunitario, concretamente el número de granulocitos, funciones de interés clínico en el tratamiento de la pérdida del tono muscular, mala condición corporal e inmunosupresión en caballos geriátricos (Malinowski y cols., 1997). La administración intramuscular de GH recombinante se considera un medio eficiente para proveer IGF-1 a las articulaciones favoreciendo la reparación del cartílago articular (Dart y cols., 2003).

Como se ha expresado previamente, la GH se expresa en otras áreas cerebrales además de la hipófisis como, la corteza, el hipocampo, el núcleo caudado y el área retinal, lugares en los que ejerce funciones neuroprotectoras y regenerativas (Lim y cols., 2014). A nivel del hipotálamo, la hipófisis y las gónadas, estimula la actividad reproductiva (Aurich y cols., 1999; Hull y Harvey, 2002). Las células gonadotropas hipofisarias contienen receptores y/o proteínas de unión a GH, observándose una menor secreción de LH/FSH en animales de experimentación deficitarios en esta hormona. En el ovario, la GH incita la esteroidogénesis a través de los receptores gonadotrópicos y de acciones sinérgicas entre la propia hormona y las gonadotropinas (Hull y Harvey, 2001). No obstante, la administración exógena de GH provoca diversos efectos según la especie y el estado reproductivo del animal, pudiendo ejercer efectos beneficiosos o perjudiciales sobre la fertilidad (Hull y Harvey, 2002).

2.2.2.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DE LA HORMONA DEL CRECIMIENTO

2.2.2.2.1.-SEXO

En sementales y machos castrados la secreción de GH se incrementa respecto a la yegua, si bien, los valores basales medios no difieren significativamente entre ellos (Thompson y cols., 1992; 1994; Stewart y cols., 1993). El patrón de secreción similar entre machos castrados y sementales sugiere que las hormonas gonadales no afectan a la secreción de GH en la edad adulta. No obstante, el testículo durante el desarrollo prenatal y primeras etapas del crecimiento podría provocar las diferencias en el eje somatotropo entre ambos sexos (Thompson y cols., 1994).

2.2.2.2.2.-EDAD

En équidos, seres humanos y animales de experimentación las concentraciones de GH disminuyen progresivamente con el avance de la edad, relacionándose con la menor secreción hipotalámica de GHRH y de esteroides gonadales (Muller y cols., 1993; Stewart y cols., 1993; Veldhuis, 2008; Skottner, 2012). Es importante destacar que el exceso patológico de GH en humanos y animales de experimentación disminuye la esperanza de vida (Jadresic y cols., 1982; Bartke, 2003), mientras que en individuos con deficiencia genética o resistencia a la GH la incidencia de enfermedades asociadas a la edad como aterosclerosis, diabetes y cáncer se reduce (Oliveira y cols., 2007; Guevara-Aguirre y cols., 2011; Barkte y cols., 2013).

2.2.2.2.3.-RITMOS CIRCADIANOS

En équidos, la secreción de GH presenta un patrón pulsátil no sujeto a variaciones diurnas o estacionales (Thompton y cols., 1992; Stewart y cols., 1993; Thompson y cols., 1994; De Graaf-Roelfsema y cols., 2007). Los picos de secreción alcanzan valores de 8 ng/ml y retornan a niveles basales (1-2 ng/ml) en un periodo de 3 horas (Christensen y cols., 1997), detectándose niveles de $12 \pm 3,12$ ng/ml durante un ciclo de 8 horas (De Graaf-Roelfsema y cols., 2011). Generalmente, pueden llegar a producirse de 2 a 5 picos hormonales durante un periodo de 24 h. En seres humanos, la secreción de GH muestra un patrón circadiano con picos de secreción nocturnos, durante el sueño profundo, relacionándose con el incremento de GHRH y leptina, y descenso de SIRT (Lim y cols., 2014). En équidos, si bien se desconoce si existe relación entre dichos factores, también se ha descrito una mayor incidencia de pulsos de secreción durante la acrofase nocturna (De Graaf-Roelfsema y cols., 2007).

2.2.2.2.4.-ESTIMULACIÓN SEXUAL

En sementales la GH alcanza cifras 8 a 10 veces superiores en presencia de yeguas en estro y tras la estimulación sexual (Thompson y cols., 1992).

2.2.2.2.5.-CONDICIÓN CORPORAL

En seres humanos, la obesidad se relaciona con menores tasas de GH en respuesta al descenso de GHBP y a la frecuencia de los pulsos de secreción, aunque los mecanismos que relacionan estos factores permanecen desconocidos. Asimismo, la deposición de tejido adiposo visceral parece ser especialmente relevante y se correlaciona negativamente con las concentraciones plasmáticas de GH (Lim y cols., 2014). De hecho, el tratamiento con GH en

personas obesas desciende la grasa corporal y mejora la sensibilidad a la insulina (Johannsson y cols., 1997). La obesidad, la resistencia a la insulina y la laminitis pueden surgir de la combinación de malas prácticas de manejo en individuos genéticamente susceptibles. La excesiva acumulación de grasa corporal en estos individuos conduce a un estado de resistencia a la insulina, limitando la absorción y la utilización de glucosa por parte del músculo esquelético. A su vez, la insulina estimula el metabolismo de la glucosa en el tejido adiposo favoreciendo la lipogénesis. Aunque el aumento de insulina en un équido obeso conlleva deposición de grasa, socavando cualquier intento de pérdida de peso, el tratamiento con GH junto con una dieta controlada en calorías aumenta la masa magra, la sensibilidad a la insulina y disminuye el riesgo de laminitis (Noble y Sillence, 2013).

2.2.2.2.6.-ALIMENTACIÓN

El ayuno o la restricción alimentaria en équidos provoca descenso de la glucemia e insulinemia e incremento de la GH (Salazar-Ortiz y cols., 2011). Sin embargo, ante dichas situaciones los niveles de GH no se correlacionan con el IGF-1, ya que los receptores hepáticos pierden sensibilidad ante concentraciones plasmáticas reducidas de insulina, leptina y/o adiponectina (Butler y cols., 2003; Lubbers y cols., 2013). Además, la reducción de la síntesis de IGF-1 desequilibra el eje somatotrópico, favoreciendo el incremento continuo de GH (Butler y cols., 2003; Salazar-Ortiz y cols., 2011; Salazar-Ortiz y cols., 2014).

La restricción proteica ejerce mayor influencia sobre la secreción de GH en yeguas adultas, que la restricción energética (Sticker y cols., 1995). Asimismo, Gray y cols. (2013) evidenciaron que el periodo de tiempo transcurrido entre la ingesta de alimento y el primer pico de secreción de GH era superior en potros alimentados con concentrados glucídicos y que, durante las horas de oscuridad estos animales presentaban mayor liberación de GH respecto a los mantenidos con dietas bajas en glúcidos (Gray y cols., 2013). No obstante, algunos estudios han mostrado que la GH plasmática no sufre variaciones significativas postprandiales (DePew y cols., 1994; Sticker y cols., 1995).

2.2.2.2.7.-EJERCICIO

El ejercicio físico estimula la liberación de GH en équidos, considerándose una de las hormonas junto con la PRL y el CORT secretadas en respuesta a la estimulación del SNS (Colborn y cols., 1991; Thompson y cols., 1992). Aunque la implicación de la GH en el ejercicio en el caballo no ha sido aclarada completamente, se ha hipotetizado que el incremento de esta hormona

durante el ejercicio podría favorecer el aporte energético necesario para restaurar el equilibrio homeostático durante la fase de recuperación, induciendo la lipólisis y la síntesis proteica a la vez de preservar las proteínas presentes en el interior del miocito (Wee y cols., 2005; Guyton y Hall, 2006; De Graaf-Roelfsema y cols., 2007; 2009). En seres humanos, la estimulación nerviosa, la secreción de catecolaminas (Weltman y cols., 2000), las β -endorfinas, el lactato, el NO y las modificaciones en el equilibrio ácido-base (Consitt y cols., 2002; Godfrey y cols., 2003) conducen a la elevación de la GH durante el ejercicio.

En équidos, el estrés asociado al sobreentrenamiento provoca un patrón de secreción irregular, con aumento en la frecuencia de los pulsos y la vida media de esta hormona (De Graaf-Roelfsema y cols., 2009).

2.2.2.2.8.-VARIACIONES RELACIONADAS CON LA TOMA DE MUESTRAS

Como se ha expresado anteriormente, la secreción de GH en équidos se produce de forma episódica, manifestando un ritmo nocturno (Thompson y cols., 1992; Cahill y cols., 1994; Christensen y cols., 1997), por lo que para garantizar la calidad en los resultados, se recomienda tomar las muestras sanguíneas con intervalos de 15 minutos (Sticker y cols., 1995). Adicionalmente, la existencia de varias isoformas de la GH y el tipo de anticuerpos monoclonales y policlonales dirigidos a epítomos específicos para estas isoformas, hace que los valores obtenidos en una misma muestra puedan presentar variaciones (Nindle y cols., 2001; De Palo y cols., 2006; De Graaf-Roelfsema y cols., 2007).

2.2.2.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS

Las concentraciones plasmáticas medias de GH oscilan entre 1,15 y 3,5 ng/ml en yeguas adultas sanas (Thompson y cols., 1994; Sticker y cols., 1995; Storer y cols., 2007; Valencia y cols., 2013).

2.2.2.4.- MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN

El papel de la GH durante la gestación es decisivo. A nivel embrionario, la GH interviene en la formación del blastocelo e implantación uterina (Drakakis y cols., 1995; Izadyar y cols., 1996; Pantaleon y cols., 1997; Markham y Kaye, 2003). Kölle y cols. (2001) han demostrado la presencia de receptores para la GH en embriones bovinos de 2 días favoreciendo el metabolismo de glucógeno y el transporte de lípidos (Ribeiro y cols., 2014).

De forma genérica, la actividad de la GH durante la gestación se asocia con las adaptaciones metabólicas de la gestante vía estimulación de la gluconeogénesis, la lipólisis, anabolismo y transferencia de nutrientes al feto en desarrollo. En cerdas, esta hormona aumenta la concentración de glucosa en el líquido amniótico y la síntesis de proteínas endometriales, estimulando la síntesis de secreciones histotróficas (Ribeiro y cols., 2014). Estos efectos unidos a la hipertrofia uterina garantizan la supervivencia embrionaria, como ha sido documentado en la mujer (Rehfeldt y cols., 2004; Oliveira y cols., 2008; Ribeiro y cols., 2014). En ovejas, la administración intrauterina de GH incrementa la expresión de proteínas histotróficas (Spencer y cols., 1999), mientras en vacas gestantes favorece el desarrollo del concepto, disminuye las pérdidas embrionarias y mejora la fertilidad (Ribeiro y cols., 2014). Asimismo, en la cerda y animales de experimentación, la administración de GH aumenta el peso placentario (Sterle y cols., 1995) y fetal (Spencer y cols., 1994), respectivamente.

En ponies Shetland (Aurich y cols., 1999), primates (Handwerger y Freemerk, 2000) y animales de experimentación (Kishi y cols., 1991; Escalada y cols., 1997) las concentraciones de GH se incrementan significativamente durante la gestación. Sin embargo, aunque en ovejas (Al Gubory y cols., 1999), cerdas (Diamini y cols., 1995) y cabras (Kornalijnslijper y cols., 1997; Hashizume y cols., 1999) se mantiene el patrón pulsátil de secreción, las modificaciones no llegan a alcanzar la significación estadística.

En la yegua, el aumento de GH responde a la estimulación ejercida por los progestágenos ováricos y/o placentarios, si bien, no se descarta la contribución de otros péptidos placentarios relacionados con esta hormona (Aurich y cols., 1999). De hecho, Stewart y cols. (1987) revelaron la expresión de una proteína relacionada estructuralmente con la GH en los cálices endometriales, que podría comportarse como un lactógeno placentario. No obstante, estas evidencias no han sido confirmadas en la actualidad. En otras especies animales como roedores y vacas, los lactógenos placentarios están genéticamente más próximos a la PRL que a la GH, de forma que el gen de la isoforma hipofisaria es el único que se expresa en animales no primates (Su y cols., 2000; Hull y Harvey, 2002), pudiendo estimular la secreción hipotalámica de GH (Kishi y cols., 1991). De hecho, la realización de histerectomía en ovejas gestantes no modifica los niveles circulantes, mientras que la hipofisectomía en roedores reduce la GH a niveles indetectables (Carlsson y cols., 1990; Al-Gubory y cols., 1999). Sin embargo, en primates se ha documentado ampliamente la producción de proteínas relacionadas con la GH, que resultan de la expresión placentaria del gen hGH-V y de tres lactógenos (Eberhardt y cols., 1996).

En la mujer, los niveles plasmáticos de GH hipofisaria son similares entre gestantes e ingravidas durante el primer trimestre de gestación, si bien, los estrógenos y la relaxina estimulan

inicialmente la síntesis de esta hormona (Emmi y cols., 1991). No obstante, a partir de las 15 semanas la GH hipofisaria desciende gradualmente, debido a la resistencia de las células somatotropas a estímulos fisiológicos como la GHRH y, al mecanismo feedback negativo ejercido por el IGF-1. La secreción de IGF-1 se ve favorecida por la GH placentaria, que alcanza valores máximos alrededor de las 20 semanas de gestación, sustituyendo gradualmente a su homóloga hipofisaria (Hull y Harvey, 2001). De forma contraria a la GH hipofisaria, la placentaria no presenta un patrón de secreción pulsátil, ni responde al GHRH ni al SRIF. Se piensa que la glucemia es el principal factor modulador de la GH placentaria, la cual protege al feto de las deficiencias nutricionales (Alsat y cols., 1998; Hull y Harvey, 2001).

A diferencia de lo que acontece en la mujer, en animales de experimentación las concentraciones plasmáticas de GH aumentan progresivamente en la segunda mitad de la gestación y disminuyen el día antes del parto, siendo su procedencia exclusivamente hipofisaria (Kishi y cols., 1991; Carlsson y cols., 1990). Dicho incremento hormonal unido al descenso de IGF-1 (Escalada y cols., 1997), podría indicar cierta resistencia hepática a la GH y una menor sensibilidad del eje somatotropo al feedback negativo ejercido por este factor (Hull y Harvey, 2002).

Diversos estudios han descrito una relación significativa entre la GH placentaria y el crecimiento fetal, si bien, el hecho de que los mecanismos sean directos o mediados por los efectos de esta hormona sobre la disponibilidad de nutrientes y el IGF-1 permanecen aún sin aclarar (McIntyre y cols., 2000; Chellakooty y cols., 2004). Aunque en roedores la GH no atraviesa la placenta (Fholenhag y cols., 1994), algunos estudios sugieren que los efectos metabólicos de esta hormona están directamente relacionados con la disponibilidad de nutrientes para el feto. De hecho, la disminución de GH reduce la transferencia de nutrientes y compromete el desarrollo fetal (Caufriez y cols., 1993; Fowden y Forhead, 2009), como podría suceder en casos de hipertensión. Alternativamente, la desnutrición de la gestante puede provocar aumento de adiponectina y una mayor sensibilidad a la insulina, factores que han mostrado inhibir la expresión de la GH *in vitro* en células trofoblásticas (Feemark, 2010). No obstante, las evidencias al respecto son contradictorias, ya que algunos investigadores describen niveles de GH placentaria inferiores en casos de restricción del crecimiento intrauterino y fetos de menor tamaño para su edad gestacional (Caufriez y cols., 1993; Mirlesse y cols., 1993; McIntyre y cols., 2000; Mannick y cols., 2010), mientras que otros no lo han confirmado (Mittal y cols., 2007; Sifakis y cols., 2012). En casos de parto prematuro, la expresión de hGH-V se reduce (Freemark, 2010), si bien, en pacientes con hipertensión y preeclampsia se presentan niveles elevados (Mittal y cols., 2007).

Finalmente, las concentraciones de GH se incrementan notablemente durante el periodo postparto en la yegua (Aurich y cols., 1999). Esta respuesta se asocia con el inicio de la lactación y

sus propiedades mamogénicas y galactopoyéticas, como sucede en ovejas (Kann, 1997; Min y cols., 1997), cerdas (Dlamini y cols., 1995) y ratonas (Escalada y cols., 1997) lactantes. No obstante, en yeguas los niveles de GH durante las últimas 5 semanas de gestación y el periodo de lactación son significativamente inferiores a los de yeguas ingravidas (Heidler y cols., 2003).

2.2.2.5.-FACTOR DE CRECIMIENTO SIMILAR A INSULINA (IGF-1)

El IGF-1, también denominado somatomedina C, es un péptido de estructura homóloga a la proinsulina, que actúa como mediador en muchos de los efectos de la GH sobre el crecimiento y metabolismo (Skottner, 2012). Aproximadamente, el 75% del IGF-1 circulante se sintetiza en el hígado en respuesta a la GH, aunque también se expresa en otras localizaciones como, SNC, corazón, condrocitos, fibroblastos, médula adrenal, musculatura, precursores eritroides y órganos reproductivos (Rozario y cols., 2015; Skottner, 2012; Gunawardane y cols., 2015). Algunos factores de crecimiento y hormonas como, la TSH, PTH, gonadotropinas, estrógenos y T estimulan la secreción del factor (Veldhuis y cols., 2006; Skottner, 2012).

A diferencia de la GH, el IGF-1 no muestra un patrón pulsátil, de forma que los niveles plasmáticos se mantienen constantes a lo largo del día (Noble y cols., 2007). Por este motivo, este factor se considera un buen indicador de la actividad de la GH y consecuentemente, del eje somatotropo (Muñoz y cols., 2011). La mayor parte del IGF-1 en plasma se encuentra unido a proteínas transportadoras (IGFBP) cuyo papel es fundamental para modular su propia actividad, constituir un reservorio a nivel plasmático y facilitar su transporte hasta los tejidos y espacio extravascular. En équidos se han identificado seis subtipos de proteínas (IGFBP-1; -2; -3; -4; -5; -6), diferenciadas en relación a su función y localización, que al mismo tiempo pueden estimular o suprimir la actividad del IGF-1 (De Graaf-Roelfsema y cols., 2007; Forbes y Westwood, 2008; Skottner, 2012). En plasma, la IGFBP-3 es la proteína de unión predominante, y se encuentra sometida a control regulador positivo por parte del IGF-1 y la GH (Silva y cols., 2009; Salazar-Ortiz y cols., 2014). A diferencia de la GH, el IGF-1 se une fuertemente a las proteínas de transporte, prolongando la vida media (20 h) y, por tanto, la actividad de la GH (Guyton y Hall, 2006). La mayor afinidad entre el IGF-1 y sus proteínas de unión frente a la que presenta por el receptor, determina la acción de las IGFBP sobre la actividad del péptido y la biodisponibilidad para unirse al receptor y ejercer sus funciones (Forbes y Westwood, 2008).

La concentración del receptor de IGF-1 está regulada estrictamente en cada célula en función de diversos factores que incluyen, niveles circulantes de GH, tiroxina, factores de crecimiento plaquetarios y factor de crecimiento fibroblástico (Gunawardane y cols., 2015).

2.2.2.5.1.-EFECTOS DEL FACTOR DE CRECIMIENTO SIMILAR A INSULINA (IGF-1)

El IGF-1 se define como un factor mitógeno, que estimula la proliferación celular y desarrolla importantes funciones relacionadas con la reparación tisular en procesos regenerativos, además de tratarse de un potente inhibidor de la apoptosis celular en células inmunitarias y tumorales (Yang y cols., 1999; Gunawardane y cols., 2015).

Este factor actúa como mediador de la GH sobre el crecimiento y los procesos anabólicos, estimulando principalmente la síntesis proteica (Skottner, 2012). Adicionalmente, el IGF-1 ejerce un mecanismo de feedback sobre la secreción de GH, de forma directa sobre las células somatotropas o indirectamente, a través del GHRH y el SRIF (De Graaf-Roelfsema y cols., 2007).

De forma genérica, el IGF-1 ejerce efectos conocidos sobre el sistema musculoesquelético, SNC, reproductor, hematopoyético, inmunológico y cardiovascular (Muñoz y cols., 2010, b; LaVigne y cols., 2015), desempeñando un papel clave en el desarrollo intrauterino y crecimiento postnatal. De hecho, la inactivación del gen que codifica el IGF-1 en animales de experimentación induce una tasa de mortalidad del 80%, y los animales que sobreviven muestran una tasa de crecimiento más lento (Powell-Braxton y cols., 1993). Además, el IGF-1 actúa conjuntamente con otros factores de crecimiento, como el factor de crecimiento fibroblástico (FGF) favoreciendo la síntesis de colágeno tipo I en la matriz ósea y cartilaginosa (Zofkova, 2003), reduciendo al mismo tiempo su degradación debido a la inhibición de la colagenasa (Canalis, 1997). Entre otros efectos a nivel musculoesquelético se citan, estimulación del crecimiento a nivel de la placa epifisaria de los huesos largos (Rozario y cols., 2015), estabilización de los condrocitos y protección de los efectos negativos de las interleucinas (Goodrich y cols., 2007). En animales de experimentación el descenso de IGF-1 induce atrofia muscular (Powell-Braxton y cols., 1993), mientras que el exceso de expresión provoca hipertrofia (Coleman y cols., 1995).

A nivel vascular, el IGF-1 ejerce diversos efectos que incluyen, estimulación de la mitosis e hipertrofia muscular, inhibición de la apoptosis de los cardiomiocitos y acciones vasomotoras, favoreciendo una acción inotrópica positiva, con incremento del rendimiento cardíaco (Thuesen y cols., 1994; Gibney y cols., 2007; Muñoz y cols., 2010, a). En cultivos de células musculares y endoteliales dicho factor se encuentra sometido a la acción de diversos factores como, radicales libres de oxígeno (ROS), trombina, factor de necrosis tumoral (TNF), estrógenos, angiotensina II y factores de crecimiento plaquetarios (Delafontaine y cols., 2004).

A nivel hematológico, el IGF-1 interviene en la eritropoyesis provocando la estimulación de la maduración eritrocitaria, proceso complejo que tiene lugar en varias fases encontrándose receptores para dicho factor en los precursores y eritrocitos maduros, con independencia de la

actividad ejercida por la eritropoyetina (EPO) en seres humanos (Ratajczak y cols., 1998; Arguello y cols., 2015). Este mecanismo representa un efecto protector frente a la anemia (Choi y Kim, 2004; Nilsson-Ehle y cols., 2005).

A pesar de asociarse fundamentalmente con el crecimiento y la proliferación celular, el IGF-1 también desempeña acciones metabólicas como agente insulínico, favoreciendo la absorción de glucosa y disminuyendo la producción hepática y la movilización lipídica (Froesch y cols., 1996). Se trata también de un potente factor estimulador de la síntesis proteica e indirectamente interviene en el metabolismo glucídico vía inhibición de la liberación de la GH, favoreciendo los efectos de la insulina (Clemmons, 2012).

En algunas especies, se establece una relación positiva y significativa entre la longevidad y la activación del eje somatotrópico (Bartke y cols., 2013), ya que la restricción calórica inductora del descenso de la actividad de insulina/IGF-1 e incremento de la GH prolonga la vida (Fontana y cols., 2010; Moller y Jorgensen, 2009). Aunque los mecanismos no han sido determinados, se sugiere que el equilibrio del eje somatotropo en función de la etapa del crecimiento puede influir sobre el desarrollo del individuo y la incidencia de determinadas patologías. De esta forma, las acciones combinadas del IGF-1 y GH durante la infancia y la adolescencia promueven el crecimiento y la maduración somática, si bien, el exceso de actividad en la edad adulta aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares y neoplásicas, reduciéndose la longevidad (Gunawardane y cols., 2015).

2.2.2.5.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DEL IGF-1

2.2.2.5.2.1.-RAZA

El efecto de la raza sobre las concentraciones plasmáticas de IGF-1 en équidos se encuentra sometido a debate (Malinowski y cols., (1996). De esta forma, aunque Tremblay y cols. (1993) revelaron diferencias notables entre équidos trotones y PSI, Ozawa y cols. (1995) y Daoud y Ezzo (2011) no mostraron variaciones entre razas pesadas (Percherón y Bretón), ligeras (PSI) y ponies (Shetland y Falabella) ni entre yeguas PRá y europeas, respectivamente. A pesar de ello, dentro de la misma raza se han establecido correlaciones significativas positivas entre dicho factor y la ganancia media de peso diaria (Staniar y cols., 2007) y el peso corporal alcanzado por el animal (Ozawa y cols., 1995; Muñoz y cols., 2011).

2.2.2.5.2.2.-SEXO

Las concentraciones de IGF-1 son superiores en sementales que en machos castrados y yeguas (Ozawa y cols., 1995; Champion y cols., 2002; Noble y cols., 2007). De hecho, en potros machos y équidos adultos con edades comprendidas entre 5 y 12 meses y 2 y 6 años se han detectado niveles superiores a los presentes en hembras de la misma edad. Aunque estas diferencias se han relacionado con el efecto de los andrógenos sobre la expresión de receptores hepáticos para la GH (Riber y cols., 2009; Muñoz y cols., 2011), otros autores están en desacuerdo (Lejeune y cols., 2007).

2.2.2.5.2.3.-EDAD

Los niveles de IGF-1 se incrementan en potros frente a équidos adultos, alcanzando valores máximos durante el primer año de vida debido a la mayor tasa de crecimiento, seguido de un descenso progresivo a lo largo de la edad adulta (Davicco y cols., 1994; Malinowski y cols., 1996; Champion y cols., 2002; Noble y cols., 2007; Riber y cols., 2009). No obstante, Muñoz y cols. (2011) en un total de 255 équidos PRE de distintas edades, revelaron un descenso gradual de IGF-1 desde el primer mes hasta los 10-14 años, sugiriendo la existencia de variaciones cronológicas también relacionadas con la raza. Por el contrario, otras investigaciones llevadas a cabo en équidos con edades comprendidas entre 3 y 27 años (Watson y cols., 2004; Lygren y cols., 2014) y ponies (3 a 32 años) (Köller y cols., 2016) no han mostrado variaciones con el avance de la edad.

2.2.2.5.2.4.-ALIMENTACIÓN Y CONDICIÓN CORPORAL

La condición corporal y la dieta son dos factores que modifican el eje somatotrópico en la yegua. De hecho, la ingesta calórica incrementa los niveles de IGF-1, reduciéndose en casos de malnutrición, anorexia y alteración hepática o renal. La reducción del IGF-1 inducida por la restricción nutricional, queda revertida tras la ingesta de alimento (Christensen y cols., 1997). Asimismo, en yeguas de baja condición corporal las concentraciones plasmáticas de IGF-1 son inferiores a las de yeguas obesas, mientras que la GH sigue el patrón inverso (Gentry y cols., 2002; Salazar-Ortiz y cols., 2011). Este descenso de IGF-1 en casos de delgadez o restricción alimentaria se atribuye a la disminución de la sensibilidad y concentración de receptores hepáticos para la GH, cuya sensibilidad depende de la insulinemia, entre otros factores (Butler y cols., 2003; Salazar-Ortiz, 2014; Rozario y cols., 2015).

La composición nutricional de la dieta también influye sobre la secreción de IGF-1, detectándose niveles superiores en potros mantenidos con dietas ricas en carbohidratos frente a

los alimentados con fibra y grasa (Treiber y cols., 2005; Staniar y cols., 2007). De forma similar, las yeguas sostenidas con pasto presentan cifras superiores a las sustentadas con heno, lo cual se asocia al mayor contenido en carbohidratos en el primer caso (Storer y cols., 2007).

2.2.2.5.2.5.-ESTACIONALIDAD

El momento del año perturba las concentraciones plasmáticas de IGF-1 debido al efecto de diversos factores medioambientales como, la temperatura, el fotoperiodo y las propiedades nutritivas del pasto. De hecho, en los meses de primavera y verano las concentraciones de este factor alcanzan cifras significativamente superiores a las de otras estaciones del año, correlacionándose con la mayor tasa de crecimiento en animales jóvenes (Staniar y cols., 2007; Luszczynski y Pieszka, 2011). En relación a estos acontecimientos, Staniar y cols. (2007) en potros PSI han descrito concentraciones plasmáticas de IGF-1 superiores en animales con una mayor ganancia media de peso diaria durante los meses de mayo y junio, respecto a las presentes en marzo.

2.2.2.5.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS

Las concentraciones medias de IGF-1 en équidos presentan gran variabilidad. De hecho, en yeguas PRE, Muñoz y cols. (2011) obtuvieron niveles plasmáticos medios ($109 \pm 63,35$ ng/ml) inferiores a los de otras razas equinas como, PRá ($382,50 \pm 19,6$ ng/ml), PSI ($303 \pm 3,2$ ng/ml), Silla Francés (230 ± 18 ng/ml), Cuarto de Milla (159 ng/ml) y ponies (428 ± 30 ng/ml) (Davicco y cols., 1994; Watson y cols., 2004; Storer y cols., 2007; Noble y cols., 2007; Daoud y Ezzo, 2011).

2.2.2.5.4.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN

De forma similar a la mujer (Chellakooty y cols., 2004), los niveles maternos de IGF-1 se modifican notablemente durante la gestación en la yegua (Derar y cols., 2005). De hecho, las concentraciones plasmáticas se incrementan durante el primer periodo en yeguas PSI (Derar y cols., 2005) con la finalidad de promover el desarrollo folicular y la esteroidogénesis durante las primeras etapas de la gestación. Aunque los estrógenos estimulan la síntesis de IGF-1 a nivel hepático y folicular durante el ciclo estral (Spicer y cols., 2005), esta relación no se observa al inicio de la gestación, lo cual podría indicar acciones inhibitorias del IGF-1 sobre la actividad de la enzima aromatasa, como ha sido documentado en cerdas (Veldhuis y cols., 1983). En rumiantes, el IGF-1 estimula al CL de gestación promoviendo la secreción pulsátil de P_4 necesaria para el mantenimiento de la preñez (Khan-Dawood y cols., 1994; Liebermann y cols., 1996).

En mujeres gestantes con función somatotrófica normal, las concentraciones de IGF-1 disminuyen durante el primer periodo de gestación en respuesta a la resistencia hepática a la GH hipofisaria por aumento fisiológico de estrógenos (Persechini y cols., 2015). En el embrión equino la proteína de transporte IGFBP-3 comienza a expresarse a partir de los 10 días de gestación (Herrler y cols., 2000) con niveles detectables de IGF-1 entre los 8-12 días de gestación (Beckelmann y cols., 2013). La expresión de IGF-1 en los microcotiledones durante los últimos dos tercios de gestación, concretamente alrededor del día 130 indica el efecto de este factor sobre la proliferación y migración de las células placentarias, sugiriendo acciones paracrinas (Arai y cols., 2006). En la mujer, el IGF-1 ejerce una acción directa sobre la invasión de las células trofoblásticas y la remodelación vascular, asegurando la óptima función placentaria (Mayama y cols., 2013). En relación a estos acontecimientos se ha demostrado experimentalmente que la infusión de IGF-1 en ovejas gestantes (Liu y cols., 1994) y animales de experimentación (Sferruzzi-Perri y cols., 2007) incrementa la absorción de aminoácidos por parte del feto y en consecuencia, la glucemia fetal. Esos hallazgos sugieren la influencia del IGF-1 sobre el desarrollo fetal y la correcta función placentaria (Forbes y Westwood, 2010).

En la mujer, las concentraciones plasmáticas de IGF-1 se incrementan a partir de las 20 semanas de gestación en respuesta a la GH placentaria. Aunque el IGF-1 materno se relaciona con el tamaño placentario y el aporte de nutrientes al feto (Chellakooty y cols., 2004), el efecto que ejerce sobre el crecimiento fetal resulta controvertido. De hecho, diversos estudios han establecido una correlación positiva entre el IGF-1 plasmático materno en la gestante y el peso del neonato al nacimiento (Caufriez y cols., 1994; McIntyre y cols., 2000), descendiendo significativamente el IGF-1 y GH placentaria en situaciones de retraso en el crecimiento intrauterino (Caufriez y cols., 1993; Mirlesse y cols., 1993). Cabe destacar que esta relación únicamente se produce en situaciones de disfunción placentaria, no en gestaciones normales (Holmes y cols., 1998; Chellakooty y cols., 2004). Sin embargo, en gestaciones equinas, los niveles plasmáticos maternos de IGF-1 no se relacionan con la tasa de crecimiento del embrión (Derar y cols., 2005). La expresión de IGF-1 en el concepto presente a partir de los 8 días podría intervenir en el reconocimiento maternal de la gestación, favoreciendo su propia supervivencia mediante la supresión de los mecanismos antiapoptóticos (Beckelmann y cols., 2013).

La biodisponibilidad del IGF-1 se encuentra sometida a la expresión de las proteínas de unión, detectándose elevadas concentraciones de IGFBP-1 y -3 en la interfaz maternofetal (Forbes y Westwood, 2008). En fetos humanos de pequeño tamaño, Nawathe y cols. (2016) mostraron menor expresión placentaria de IGF-1 y elevación de proteínas de unión (IGFBP-1, -2, -3, -4 y -7). De forma contraria, en placentas que albergan fetos con tamaño superior para su edad

gestacional la expresión de estas proteínas disminuye. Estas asincronías entre el IGF-1 y las proteínas de unión alteran el crecimiento fetal y la funcionalidad placentaria. No obstante, los niveles de IGF-1 pueden no modificarse a pesar del incremento de IGFBP-1 plasmática y la restricción del crecimiento intrauterino (Watson y cols., 2006). Durante la gestación la susceptibilidad de las IGFBP a los procesos de desfosforilación y proteólisis se incrementa, disminuyendo su afinidad por el IGF-1 e incrementando su disponibilidad (Gibson y cols., 2001). En mujeres ingravidas la IGFBP-1 circulante se presenta en forma fosforilada, con elevada afinidad por el IGF-1. Sin embargo, la expresión de la enzima fosfatasa alcalina por parte del sincitiotrofoblasto parece anular la fosforilación, alterando su capacidad de unión y, por tanto, la biodisponibilidad del IGF-1 (Westwood y cols., 1994).

En la mujer, los niveles de IGF-1 alcanzan una meseta a las 32 semanas de gestación (Lauszus y cols., 2003; Higgins y cols., 2012; Kedzia y cols., 2013). Diversos factores como el incremento de la actividad hepática, el efecto de las gonadotropinas y los estrógenos (Hull y Harvey, 2014) estimulan la síntesis de IGF-1 (Yang y cols., 2013), como previamente había sido documentado en animales de experimentación (Grant y cols., 2005).

En la yegua, las concentraciones plasmáticas se incrementan durante el último mes de gestación, alcanzando valores máximos dos días después del parto (Deichsel y cols., 2006; Abo El-Maaty y cols., 2013). Esta dinámica favorece el retorno temprano a la actividad ovárica postparto, que difiere del anestro lactacional observado en otras especies como la vaca, en la que el IGF-1 disminuye bruscamente, hecho relacionado con las elevadas demandas metabólicas durante la lactación (Hess-Dudan y cols., 1994; Heidler y cols., 2003).

De forma similar a la restricción en el crecimiento intrauterino (Mirlesse y cols., 1993), diversos procesos patológicos como la preeclampsia (Peng y cols., 2011) y la diabetes tipo 1 (Ringholm y cols., 2008) alteran la dinámica de secreción de IGF-1. Así, en mujeres diabéticas, los niveles de IGF-1 se reducen como consecuencia de la disminución de la síntesis hepática secundaria a la depresión generalizada de la síntesis proteica en presencia de bajos niveles de insulina (Ringholm y cols., 2008). En relación a la preeclampsia, la respuesta es variable, habiéndose documentado cifras inferiores (Peng y cols., 2011) o superiores (Vatten y cols., 2008) de IGF-1. Durante la gestación, la proteína de unión, IGFBP-1 también se produce en la placenta, resultando en mayores concentraciones maternas. Se ha hipotetizado que la elevada producción decidual de IGFBP-1, podría bloquear el IGF-1 y reducir la invasión del trofoblasto, y en consecuencia, alterar la placentación (Vatten y cols., 2008). Sin embargo, no todos los autores confirman esta hipótesis (Grobman y Kazer, 2001). Finalmente, en la mayoría de pacientes con

acromegalia el nivel de IGF-1 permanece estable debido al efecto de los estrógenos, que causan un estado de resistencia a la GH (Laway, 2015).

2.3.-HORMONAS PLACENTARIAS

2.3.1.-ANDRÓGENOS: ANDROSTENEDIONA, DEHIDROEPIANDROSTERONA Y TESTOSTERONA

Aunque de forma genérica las hormonas esteroideas se sintetizan a partir del colesterol, que procede mayoritariamente de la dieta y circula unido a las lipoproteínas de baja densidad (LDLs), en seres humanos pueden sintetizarse *de novo* a partir del acetato. Adicionalmente, los niveles intracelulares presentes en tejidos y órganos que incluyen la corteza adrenal, el ovario y testículo, el intestino y el cerebro también contribuyen a la síntesis de estas hormonas si los niveles de LDL son adecuados. En estas circunstancias, la síntesis intracelular de colesterol y ácidos grasos puede suprimirse debido a la inhibición de la enzima HMG-CoA reductasa (3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA reductasa; HMGCR), que controla las rutas metabólicas encargadas de la producción de colesterol (Miller y Auchus, 2011).

Las lipoproteínas LDLs son incorporadas en la célula mediante endocitosis, y una vez en su interior los ésteres de colesterol pueden quedar almacenados o libres para acceder al interior de la mitocondria. En este proceso participan las proteínas de transporte (StAR), que se unen a él y facilitan su transporte a nivel de las células de la granulosa (Belin y cols., 2000). El colesterol pasa de la membrana externa a la interna de la mitocondria, lugar en el que se localiza la enzima P450_{scc}, encargada de convertir el colesterol en P₅. Este proceso constituye el paso limitante para la síntesis de todas las hormonas esteroideas (Hart y Barton, 2011). Con posterioridad, la enzima 3β-HSD cataliza la conversión de P₅ en P₄, que mediante el citocromo P450_{17α} (enzima 17α-hidroxilasa) será transformada en 17 hidroxip₅ y 17 hidroxip₄, respectivamente. Aunque ambos esteroides son convertidos en DHEA y A₄ a través de la enzima 17,20 liasa, la enzima 3β-deshidrogenasa cataliza la transformación directa de DHEA en A₄, y ésta última mediante la enzima 17β-HSD en T. Finalmente, la enzima aromatasa (P450_{arom}) presente en las células de la granulosa aromatiza los andrógenos a estrógenos (Belin y cols., 2000).

Las células de la teca sintetizan predominantemente A₄ en los folículos preovulatorios, si bien, la producción de P₄ y E₂ es minoritaria (Sirois y cols., 1991; Neto y cols., 2010). Aunque en las células de la granulosa de los folículos con diámetros superiores a los 5 mm hasta el estadio preovulatorio las enzimas P450_{scc}, 3β-HSD y P450_{arom} se expresan notablemente, el grado de expresión en los folículos subordinados es muy escaso, lo cual indica la menor capacidad esteroideogénica en estos últimos.

El 95% de la secreción de T en el semental tiene lugar fundamentalmente en las células de Leydig, localizadas en el tejido intersticial de los túbulos seminíferos testiculares (Handelsman, 2013). En el hombre, aunque la síntesis extragonadal de T es insignificante, en la mujer, las glándulas adrenales y la interconversión periférica de andrógenos contribuyen a los niveles circulantes de forma notable (Davison y cols., 2005). En la yegua además de la síntesis ovárica, estudios *in vitro* han revelado que la corteza adrenal, concretamente la zona reticular, podría incrementar las concentraciones circulantes de andrógenos, principalmente a través de la síntesis de A₄ (Silberzahn y cols., 1984; Ginther, 1992). No obstante, la DHEA es el andrógeno mayoritario tanto en sementales como yeguas PRE, seguido por la A₄ y la T (Ayala y Martos, 2013). Concretamente en équidos Mongoles, cuyos sementales no suelen vivir en harenes y por tanto no desarrollan conductas sexuales, se describen concentraciones plasmáticas de A₄ cuatro veces superiores a las de T (Haffner y cols., 2010).

La LH estimula la secreción de andrógenos a nivel ovárico, mientras que la ACTH es la hormona implicada en la síntesis adrenal de dichos esteroides. Adicionalmente, la administración exógena de ACTH en la yegua provoca aumento significativo de A₄ y T en hembras intactas frente a ovariectomizadas, sugiriéndose la influencia de la ACTH también a nivel gonadal (Hedberg y cols., 2007, a, b).

En sangre periférica, los andrógenos se encuentran unidos a la globulina de unión a las hormonas sexuales (SHBG) y, con menor afinidad a la albúmina, cuyo papel es regular los niveles plasmáticos biodisponibles y actuar como reservorio (Hodgson y Braunstein, 2007). En équidos, aunque la CBG y la albúmina son las proteínas que intervienen en el transporte, la ausencia de SHBG provoca una mayor tasa de aclaramiento metabólico (Dehennin y cols., 2001; Hart y Barton, 2011).

2.3.1.1.-FUNCIONES FISIOLÓGICAS DE LOS ANDRÓGENOS

Los andrógenos modulan la actividad fisiológica de los órganos reproductivos que incluyen los ovarios, el útero, la vagina, el oviducto y la glándula mamaria (Traish y cols., 2002). En estos órganos ejercen acciones directas e indirectas mediadas por la aromatización a estrógenos. La amplia distribución de sus receptores a nivel del tejido muscular, esquelético, piel, tracto GI, corazón, SNC, tejido adiposo, tracto genitourinario, placenta y glándulas lacrimales, informa de la gran variedad de efectos fisiológicos, aunque se desconoce si ejercen acciones específicas en cada una de estas localizaciones (Davison y Bell, 2006). En équidos, los andrógenos intervienen en el desarrollo del comportamiento sexual, observándose signos de celo, agresividad, vocalización e

intentos de monta en yeguas ovariectomizadas tratadas con T (Wallace, 1981) y en aquellas que presentan tumor de células de la granulosa (TCG) (McCue, 1998). En seres humanos, se ha sugerido el papel de estas hormonas sobre el estado de ánimo, el comportamiento sexual, la espermatogénesis, inhibición de la deposición de la grasa, incremento de la masa muscular esquelética y la mineralización ósea, entre otros (Hodgson y Braunstein, 2007).

La T es el principal andrógeno circulante en el semental. La unión de la T a los receptores específicos presentes en el testículo, musculatura y grasa principalmente, juega un papel importante en la diferenciación sexual. Este esteroide es metabolizado por la 5 α -reductasa a 5 α -dihidrotestosterona (DHT), metabolito 7 veces más potente que su precursor, con efectos androgénicos y anabólicos. Los esteroides anabolizantes que incluyen la nandrolona, el stanozolol y la oximetazona, entre otros, son análogos sintéticos de la T con efectos anabólicos (Reddy y Gadsby, 2009). Estos fármacos han sido tradicionalmente empleados para estimular el apetito, mejorar la recuperación de caballos caquécticos, debilitados, parasitados, postquirúrgicos, favorecer la recuperación en lesiones musculares u ortopédicas, etc. (Pitts y Davis, 2007). No obstante, aunque la utilización de este tipo de fármacos en caballos de deporte mejora el rendimiento y el apetito, dichos efectos no han podido aclararse íntegramente y están sujetos a controversia (Snow y cols., 1982; Pitts y Davis, 2007). Al igual que los estrógenos, la T actúa sobre los osteoblastos y los osteocitos a través de sus receptores, vía aromatización a E₂ o bien a través de factores de crecimiento y citoquinas, incrementando la densidad ósea, la diferenciación de los osteoblastos, condrocitos, el reclutamiento y la actividad de los osteoclastos (Notelovitz, 2002, Caron y cols., 2013). En caballos de deporte, el tratamiento con andrógenos sintéticos incrementa el área transversal de las fibras musculares tipo I y el % de fibras tipo IIA, correlacionándose con la concentración de receptores androgénicos (Hyyppä y cols., 1997). De forma similar, en seres humanos, los esteroides anabólicos aumentan la masa muscular, empleándose en pacientes con pérdida de musculatura secundaria a fracturas (Hedstrom y cols., 2002), a la edad (Sheffield-Morre y cols., 2006) o al tratamiento con glucocorticoides (Creutzberg y cols., 2003). En animales de experimentación el uso de nandrolona tras contusiones o ejercicio exhaustivo atenúa el daño muscular (Tamaki y cols., 2001). Por el contrario, los esteroides anabolizantes pueden reducir el tamaño de los testículos y conducir a una menor producción de espermatozoides en sementales y alterar el crecimiento normal del hueso en potros (Teubner y cols., 2015).

En yeguas intactas, la terapia sostenida con esteroides anabólicos provoca la pérdida de comportamiento de celo, celos de menor duración, comportamiento masculino, así como alteraciones en el tamaño ovárico y en el desarrollo folicular que se manifiestan incluso hasta 6 meses después de la finalización del tratamiento (Squires y cols., 1985).

2.3.1.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DE LOS ANDRÓGENOS

2.3.1.2.1.-SEXO

En un estudio llevado a cabo en 74 sementales y 44 yeguas, Ayala y Martos (2013) mostraron valores significativamente superiores de DHEA, A₄ y T en machos respecto a hembras.

2.3.1.2.2.-EDAD

El estado de inmadurez sexual en animales jóvenes conlleva valores basales de andrógenos (Inoue y cols., 1993). Hacia los 12 a 15 meses se alcanza un pico de secreción, que se estabiliza a los 16 meses de edad tanto en machos como hembras. Sin embargo, en équidos adultos no se han descrito variaciones significativas asociadas al avance de la edad (Stewart y Roser, 1998; Ayala y Martos, 2013). A pesar de ello, Moeller y cols. (2009) mostraron que producción de andrógenos aumenta con la edad y depende del fotoperiodo, detectándose valores máximos durante la temporada reproductiva (mes de abril, principalmente). De la totalidad, la T y la A₄ fueron los andrógenos predominantes, con niveles superiores a 125 pg/ml.

Por el contrario, las concentraciones plasmáticas de andrógenos en la mujer se incrementan en la edad adulta, alcanzando valores máximos entre los 20 y 30 años, aunque declinan posteriormente. No obstante, se detectan incrementos tardíos de T y A₄ asociados a la estimulación de las células tecaes por parte de la LH ya que, de forma contraria a los estrógenos, el ovario continúa sintetizando andrógenos tras la menopausia. Se desconoce si este descenso refleja la pérdida de funcionalidad ovárica o la menor producción de precursores a nivel adrenal, ya que la SHBG no disminuye. Tanto la pérdida de masa celular en la zona reticular de la glándula adrenal encargada de la síntesis de DHEA como el feedback negativo ejercido por el CORT, podrían ser causas potenciales del descenso de la síntesis adrenal de DHEA (Davison y cols., 2005; Hodgson y Braunstein, 2007).

2.3.1.2.3.-ESTACIONALIDAD

En sementales, las concentraciones de andrógenos siguen un patrón estacional, con valores significativamente superiores durante la estación reproductiva (Raeside, 1979; Khalil y cols., 1998; Moeller y cols., 2009). La T y la melatonina están inversamente correlacionadas (Altinsaat y cols., 2009). De hecho, la administración exógena de melatonina disminuye las concentraciones plasmáticas de T, mientras que la fotoestimulación artificial ejerce el efecto contrario (Argo y cols., 1991). Por este motivo, frente a los meses de otoño e invierno, las concentraciones

testiculares de T se duplican durante el mes de julio, correlacionándose al mismo tiempo con la tasa de producción espermática (Berndtson y cols., 1983).

2.3.1.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS

Aunque el rango de referencia para la T descrito en yeguas no gestantes oscila entre 0,02-0,045 ng/ml (McCue, 1998; Howden, 2004; Haffner y cols., 2010), en yeguas PRE se han descrito niveles medios superiores (0,691 ng/ml), con cifras de 13,74 ng/ml y 6,235 ng/ml para la DHEA y A₄, respectivamente (Ayala y Martos, 2013). Sin embargo, Haffner y cols. (2010) en caballos Mongoles obtuvieron concentraciones de A₄ (0,294 ng/ml) inferiores a las anteriores.

2.3.1.4.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN

De forma afín a los estrógenos, la T muestra un patrón bifásico, ambos producidos durante el primer periodo y la segunda mitad de gestación (Daels y cols., 1996). El primer pico de secreción representa la respuesta del cuerpo lúteo (CL) de gestación a la estimulación de la gonadotropina coriónica equina (eCG) originada en los cálices endometriales, que provoca la transformación de la síntesis de P₄ a la secreción de T, A₄ y estrógenos. Estas evidencias quedaron constatadas mediante el estudio de Daels y cols. (1996). Dichos autores describieron que en yeguas con CL funcional, las concentraciones de T sufrieron un incremento progresivo desde el día 35 al 45 de gestación, si bien, dichas modificaciones no se producían en yeguas gestantes sin CL funcional. Posteriormente, estos mismos investigadores revelaron que el inicio de secreción de eCG se originaba de forma sincrónica al incremento significativo de A₄ (Daels y cols., 1998). Aunque el mecanismo mediante el cual la eCG regula la función luteal permanece desconocido, se describe un aumento en la expresión del citocromo P450_{17α} encargado de la conversión de P₅ en DHEA y de P₄ en A₄, al iniciarse la liberación de eCG (Albretch y cols., 1997; Hasegawa y cols., 2001), que parece limitarse al primer periodo, no detectándose hacia la mitad de la gestación (Hasegawa y cols., 2001).

El segundo pico hormonal de T procede de las gónadas fetales y es 10 veces superior al primero, retornando a niveles basales tras la regresión de las mismas hacia el final de la gestación (Ginther, 1992; Daels y cols., 1996). La hipertrofia gonadal y la expresión local de P450_{17α} conllevan elevados niveles umbilicales de P₅, T y DHEA (Raeside, 1979; Hasegawa y cols., 2001). La ausencia de 3β-HSD en las gónadas fetales sugiere que la DHEA es el producto final y que el resto de andrógenos incluida la T son sintetizados en la placenta, lugar en el que aumenta marcadamente la expresión de dicha enzima y que a su vez es la encargada de sintetizar P₄ a partir

de la P₅ y A₄ a partir de DHEA (Hasegawa y cols., 2001). De forma similar, las glándulas adrenales fetales expresan P450_{scc}, P450_{17α} y P450_{arom} hacia la mitad de gestación, contribuyendo a la síntesis de hormonas esteroideas durante este periodo. Sin embargo, al igual que en las gónadas, las adrenales no expresan la 3β-HSD, confirmando que la placenta es la principal fuente de P₄ durante la segunda mitad de la gestación (Arai y cols., 2006; Weng y cols., 2007).

La DHEA producida por las gónadas fetales, es utilizada por la placenta como precursor de la síntesis de estrógenos durante la gestación. En ponis gestantes, la DHEA se eleva a partir del día 120, alcanzándose el pico máximo entre los 168 y 210 días de la preñez (Rance y Parke, 1978). Este aumento de DHEA confirmado posteriormente por Canisso y cols. (2014) precedía 30 días al de los estrógenos, mientras que la T se incrementaba progresivamente desde los 100 a los 180 días, estabilizándose hasta los 240 días, y decreciendo posteriormente.

Aunque en la mujer y otros primates el incremento de T se ha relacionado con la actividad de las proteínas de unión a este esteroide, el estudio comparativo entre yeguas gestantes e ingravidas no aporta variaciones significativas en relación a dichas proteínas, por lo que el incremento de la esteroidogénesis de origen gonadal primariamente, y fetoplacentaria más tardía, se consideran los principales factores implicados en la elevación de T presente durante la gestación (Silberzahn y cols., 1984).

En algunas especies, los andrógenos pueden incrementar la expresión endometrial de IGF-1 junto a la enzima P450_{arom}, como se ha puesto de manifiesto en cerdas (Simmen y cols., 1992; Green y cols., 1995) y animales de experimentación ovariectomizados tras la estimulación con andrógenos y estrógenos (Sahlin y cols., 1994; Weihua y cols., 2002). Los andrógenos modulan la biodisponibilidad de IGF-1, observándose un descenso e incremento de IGF-1 tras la administración exógena de estrógenos y T en mujeres postmenopáusicas y varones adultos, respectivamente (Shah y cols., 1999; Gentili y cols., 2002; Veldhuis y cols., 2005). Por el contrario, la exposición prenatal a elevados niveles de T en ovejas se asocia con restricción del crecimiento intrauterino debido a la estimulación de la expresión hepática de IGFBP-1 y la menor biodisponibilidad de IGF-1 (Manikkam y cols., 2004; Crespi y cols., 2006).

Algunas patologías se asocian con alteraciones en los niveles de andrógenos. De hecho, las tasas de partos prematuros (McGregor y cols., 1992; Zeitlin y cols., 2002), restricción del crecimiento intrauterino (Carlsen y cols., 2006) y preeclampsia (Serin y cols., 2001; Jirecek y cols., 2003; Salamalekis y cols., 2006) aumentan significativamente en mujeres con elevación de T. Asimismo, la ausencia del primer pico gestacional de andrógenos conlleva mayores tasas de abortos espontáneos (Bamman y cols., 1980; Makieva y cols., 2014). Sin embargo, en yeguas con

placentitis los niveles plasmáticos de estrona (E_2) y sulfato de estrona (E_1S) disminuyen, en ausencia de modificaciones en la T y la DHEA (Canisso y cols., 2016).

2.3.2.-SULFATO DE ESTRONA

La producción fetoplacentaria de estrógenos en la yegua preñada difiere significativamente de la P_4 . Alrededor del día 80 de la gestación, las células intersticiales de las gónadas fetales sufren hipertrofia e hiperplasia, alcanzando su tamaño máximo alrededor de los 230 y 260 días de la preñez. En este momento, las gónadas fetales ocupan un tercio del volumen total de la cavidad abdominal fetal (Bergfelt, 2000). Posteriormente, comienzan a regresar, haciéndose imperceptibles al final de la gestación (Allen, 2005).

Una serie de experimentos en la década de los 60, establecieron que los estrógenos presentes en la yegua preñada eran producidos por aromatización de elevadas cantidades de dihidroandrosterona (DHA), DHEA y precursores de la DHEA (3β -hidroxil C-19), todos ellos sintetizados a partir de las células intersticiales de la gónada fetal (Tait y cols., 1983). De hecho, la gónada fetal contiene las enzimas necesarias $P450_{5\alpha}$ y $P450_{17\alpha}$ para la conversión de colesterol a DHEA. La DHEA es aromatizada en la placenta a estrógenos fenólicos, E_1 y E_2 , 17α y β (Pashen y cols., 1982). Los estrógenos β insaturados (equilina y equilenina y sus derivados), derivan del farnesil pirofosfato, a través de una vía no dependiente de colesterol (Möstl, 1994). Estos compuestos se han aislado en sangre materna, orina, heces y líquido amniótico, además de otros derivados hidroxilados (17β hidroxiequinelina) y sulfoconjugados (Ousey, 2004).

Los niveles de estrógenos presentan cifras similares a las de diestro durante los primeros 35 días, incrementan alrededor del día 40 (Tsumagari y cols., 1991; Ferraz y cols., 2001), debido al desarrollo folicular previo a la formación de los cuerpos lúteos (Kanitz y cols., 2007) y se mantienen hasta los 60 ó 70 días (Stabenfeldt y cols., 1991). Cabe destacar que el CL primario de gestación en la yegua produce E_1S en este momento, en respuesta a la eCG (Satué y cols., 2011). Dicho aumento de E_1S se correlaciona con la mayor expresión luteal de las enzimas necesarias implicadas en la síntesis de los precursores $17-OH-P_4$ y A_4 , cuyos niveles plasmáticos también se ven incrementados en este periodo (Conley, 2016).

A partir del día 80, la concentración se incrementa nuevamente, alcanzando niveles máximos alrededor de los 210 días (Henderson y cols., 1998; Henderson y Stewart, 2000; Henderson y Ears, 2004; Lima y cols., 2001). Aunque este segundo pico de estrógenos no se afecta por la ovariectomía, la muerte fetal espontánea conlleva a una reducción drástica de la síntesis, reflejando el origen fetoplacentario (Pashen y Allen, 1979; Raeside y cols., 1997). Alrededor de los

290 días los niveles de estrógenos se reducen de nuevo hasta el momento del parto (Cebulj-Kadunc y cols., 2003; Ousey, 2004; Satué y cols., 2011). El papel biológico de los estrógenos secretados por la unidad feto-placentaria es un hecho desconocido aún. No obstante, se conoce que juegan un papel importante en la regulación del flujo uterino y placentario para facilitar el intercambio de nutrientes y productos de desecho entre la madre y el feto, como se ha mostrado en la oveja (Daels y cols., 1990; Daels y cols., 1991).

Por otro lado, los estrógenos promueven la síntesis de prostaglandinas (PG) e incrementan la sensibilidad endometrial a la oxitocina, estimulando, por tanto, la actividad contráctil del miometrio durante el parto (Ousey, 2004). Pashen y Allen (1979) mostraron que las hembras que llevan fetos gonadectomizados, presentan una disminución inmediata de estrógenos entre los 197 y 253 días de gestación. El parto en dichas yeguas se produce de forma espontánea, precedido de fuertes contracciones miometriales, con disminución significativa de la síntesis de $PGF2\alpha$ y conduce en la mayoría de las situaciones, a retención placentaria. Además, los animales gonadectomizados son más ligeros al nacimiento y muestran menor desarrollo muscular que los no gonadectomizados. Finalmente, se ha documentado que la concentración de E_1S decrece significativamente en suero después de la expulsión o eliminación fetal, mientras que los niveles disminuyen de forma transitoria tras ovariectomía (Kasman y cols., 1988).

2.3.3.-PROGESTERONA

Al inicio de la gestación, diversas oleadas de crecimiento folicular conducen al desarrollo de folículos de mediano (10-20 mm) y gran tamaño (> 20 mm). Esta respuesta ovárica se debe fundamentalmente, al incremento de la concentración de FSH durante los primeros 20 ó 30 días de gestación (Ginther, 1992). La prevención de la regresión del CL primario en asociación con la movilidad del concepto a nivel uterino se ha considerado como reconocimiento maternal de la gestación en la yegua, aunque Ginther (1992) consideró más oportuno la denominación de “primera respuesta luteal de la gestación”. El intervalo de máxima movilidad del embrión (11-16 días) corresponde al periodo de bloqueo de la luteolisis y en consecuencia, el CL primario, sigue sintetizando P_4 . Tanto el tamaño del CL, como la producción de P_4 son mínimos durante los primeros 15 días de gestación (Ginther, 1992).

A partir de este momento, el diámetro del CL se incrementa y con él los niveles de P_4 , conllevando al resurgimiento del CL primario, que corresponde a la “segunda respuesta luteal de la gestación”. Alrededor de los 30 ó 40 días, los cálices endometriales comienzan a sintetizar eCG

(Ginther, 1992). El incremento de los niveles sistémicos de eCG y P_4 se produce de forma paralela al aumento de tamaño del CL primario (Bergfelt, 2000).

La elevada actividad folicular durante los 40 y 60 días de la gestación, se asocia con la formación de los CLs secundarios (Chavatte y cols., 1997). La formación de estas glándulas lúteas corresponde a la “tercera respuesta luteal de la gestación” (Ginther, 1992). Dichos CLs suplementarios, al igual que el CL primario, se encargan de producir P_4 durante este periodo. Inicialmente, la formación de estas estructuras resulta de la luteinización de los folículos ovulatorios (CLs secundarios) y más tardíamente, de los folículos anovulatorios (CLs accesorios) debido al efecto luteotrofo de la eCG, conllevando de nuevo al incremento de la secreción de P_4 alrededor del día 75 de la gestación (Ginther, 1992; Davies Morel, 2003).

La regresión de los cálices endometriales provoca la involución de todos los CLs alrededor de los 120 a 180 días de gestación induciendo la disminución drástica de la concentración plasmática de P_4 (Naber y cols., 1999; Ousey, 2004). Determinados estudios experimentales en yeguas han confirmado que la ovariectomía bilateral a los 75 días de gestación induce aborto, en el periodo comprendido entre los 75 y 150 días el grado de aborto es variable, y después del día 150, la P_4 ovárica no es necesaria puesto que los CLs ya regresaron y no se evidencia aborto (Holtan y cols., 1979; Davies Morel, 2003). Por tanto, estos ensayos reflejaron el papel de la placenta en el mantenimiento de la gestación a partir de la regresión de los cálices endometriales. A pesar de ello, Holtan y cols. (1991) y Squires (1993) mostraron un pico hormonal 7 días antes del parto, que podría estar producido por un “escape” de P_4 desde la sangre fetal a la circulación materna (Caldas y cols., 1990).

Holtan y cols. (1979) y Pashen y Allen (1979) mostraron que la placenta comienza a sintetizar cantidades apreciables de progestágenos alrededor del día 70 de la gestación. Los progestágenos son similares en estructura a la P_4 , se unen a sus receptores (Holtan y cols., 1991) y son cuantitativamente mayoritarios en el plasma (Ousey, 2004). La glándula adrenal fetal sintetiza elevadas cantidades de P_5 ($>10 \mu\text{mol}/\text{min}$), que será el precursor de todos los progestágenos durante la gestación tardía (Thorburn, 1993; Chavatte y cols., 1997). La enzima de clivaje de la cadena lateral $P450_{\text{scc}}$ necesaria para la conversión del colesterol está presente en la placenta equina hacia mediados de la gestación y aparece ampliamente distribuida en los tejidos útero-placentarios hacia el término de la gestación (Ousey, 2004).

Los progestágenos más importantes en el plasma materno durante este periodo son el 5α -dihidroprogesterona (5-DHP) y sus derivados, 20α -5P y el $\beta\alpha$ -diol (Chavatte y cols., 1997). Estos esteroides son producidos a partir de la P_5 y concretamente el 20α -5P y el $\beta\alpha$ -diol alcanzan

valores superiores a 500 ng/ml a término (Ousey y cols., 2003). La P_5 a nivel de los tejidos uteroplacentarios también se transforma en P_4 y se libera exclusivamente a la circulación umbilical, mientras que el $20\alpha 5P$ y el 5α -DHP son secretados a la circulación umbilical y uterina (Ousey y cols., 2003). De hecho, la enzima 5α -reductasa, encargada de la conversión de P_4 en DHP se expresa ampliamente en el alantocorion, que asume el papel predominante en la síntesis de progestágenos tras la regresión de los CLs (Scholtz y cols., 2014). Se piensa que dichos esteroides son importantes dentro de la unidad fetoplacentaria para mantener la quiescencia uterina durante la segunda mitad de la gestación (Ousey, 2004). No obstante, estudios recientes apuntan al papel de estas moléculas durante etapas tempranas debido a sus efectos sobre la relajación de la musculatura oviductal y miometrial. De hecho, la DHP es el precursor inmediato de la alopregnanolona, potente agonista de los receptores GABA en cuya síntesis intervienen enzimas comunes a las implicadas en la producción de PG y que se expresan en el embrión, oviducto y útero. La DHP posee una bioactividad similar a la P_4 , promoviendo el crecimiento endotelial, la expresión de genes dependientes de P_4 y es capaz de mantener la gestación en yeguas durante la 3ª y 4ª semana postcubrición en ausencia de P_4 luteal (Scholtz y cols., 2014; Conley, 2016).

2.4.-FACTOR DE CRECIMIENTO PLACENTARIO

El factor de crecimiento placentario (placental growth factor-PIGF) es una proteína dimérica perteneciente a la familia de los VEGF, cuya estructura tridimensional es similar a la del VEGF-A, factor principal de la familia, y con quién comparte el 42% de la secuencia de aminoácidos. A pesar de la similitud estructural, el PIGF se une exclusivamente y con elevada afinidad al receptor VEGFR-1 o Flt-1 (fms-like-tyrosine-kinase receptor 1), mientras que el VEGF-A es capaz de unirse al VEGFR-1 y al VEGFR-2 (Ribatti, 2008; De Falco, 2012).

Aunque inicialmente se identificó en la placenta, el PIGF se expresa en múltiples localizaciones como, corazón, pulmón, tiroides, músculo esquelético, células endoteliales y tejido adiposo (Persico y cols., 1999; Yonekura y cols., 1999; Voros y cols., 2005). Una vez que el factor se une al receptor específico de membrana VEGFR-1 estimula la angiogénesis, la movilización de progenitores hematopoyéticos a partir de la médula ósea y el reclutamiento de monocitos y macrófagos, necesarios para el crecimiento vascular. Aunque el PIGF no presenta afinidad por el receptor VEGFR-2, puede activarlo de forma indirecta al desplazar al VEGF-A del receptor VEGFR-1 e incitar su secreción por parte de los monocitos (Carmeliet y cols., 2001; Ribatti y cols., 2008). El PIGF potencia su actividad mediante la formación de heterodímeros con el VEGF-A tras la unión a

ambos receptores, promoviendo la mitosis de las células endoteliales, función que el PIGF ejerce mínimamente en solitario (Bottomley y cols., 2000; Autiero y cols., 2003).

Mientras que en animales de experimentación únicamente se distingue una isoforma (PIGF-2) (DiPalma y cols., 1996), en seres humanos se diferencian hasta un total de 4 (PIGF-1,-2,-3,-4), que difieren en tamaño, en las propiedades de secreción y en la afinidad de unión a sus receptores y a los correceptores neurofilinas (Ribatti, 2008). El VEGFR-1 es el más importante y se expresa en células endoteliales, monocitos, osteoblastos, células musculares, células de la vasculatura lisa, células vasculares del trofoblasto y mesangiales renales (Autiero y cols., 2003; Vrachnis y cols., 2013). Las neurofilinas-1 y -2 pueden unirse a la isoforma PIGF-2 y expresarse en las células neuronales y no neuronales, incluyendo las endoteliales (Ribatti, 2008).

Entre los estímulos que actúan sobre la expresión tisular del PIGF destacan la hipoxia, el NO (Mohammed y cols., 2007), citoquinas como, la interleucina-1 y el TNF (De Ceuninck y cols., 2004), factores de crecimiento y oncogenes (Yao y cols., 2005; Larcher y cols., 2003). Algunos autores sugieren que una de las funciones principales del VEGFR-1 es actuar como reservorio del VEGF-A, evitando su unión al VEGFR-2 y controlando de esta forma su actividad pro-angiogénica (Ferrara, 2001; Autiero y cols., 2003). La expresión del receptor VEGFR-1 se incrementa en determinados procesos patológicos como preeclampsia e *hiperemesis gravidarum*, potenciando el efecto del PIGF (Autiero y cols., 2003), mientras que su forma soluble (sVEGFR-1) actúa como antagonista e inhibe la actividad de los factores de crecimiento (Roskoski, 2007).

2.4.1.-EFECTOS DEL FACTOR DE CRECIMIENTO PLACENTARIO

El PIGF promueve la angiogénesis actuando a distintos niveles. Por una parte, es capaz de estimular directamente el desarrollo vascular interviniendo en el crecimiento, migración y supervivencia de las células endoteliales (Ziche y cols., 1997; Carmeliet y cols., 2001; Adini y cols., 2002; Fischer y cols., 2007). Por otro lado, el PIGF favorece la maduración de la vasculatura debido al incremento de la proliferación y reclutamiento de células de la musculatura lisa y fibroblastos (Yonekura y cols., 1999; Bellik y cols., 2005). Adicionalmente, el PIGF es esencial para el reclutamiento y maduración de los progenitores derivados de la médula ósea implicados en el proceso angiogénico (Hattori y cols., 2002; Rafii y cols., 2003), a la vez que promueve la diferenciación y activación de monocitos y macrófagos, esenciales en el desarrollo de los vasos colaterales. En animales adultos sanos, el PIGF favorece el desarrollo y mantenimiento funcional de la vasculatura en situaciones fisiológicas que requieren un incremento de la tasa de mitosis de las células endoteliales y mecanismos de angiogénesis como, el crecimiento, la gestación, la

reparación tisular y el ejercicio (Gigante y cols., 2004; Holmes y Zachary, 2005; De Falco, 2012). En estas circunstancias, la angiogénesis tiene lugar mediante el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos formados a partir de los capilares, y el desarrollo de la vasculatura colateral pre-existente, también conocida como arteriogénesis adaptativa (De Falco y cols., 2002). Por el contrario, ante determinadas condiciones patológicas como endometriosis, artritis reumatoide y cáncer, las propiedades angiogénicas y proinflamatorias del PIGF resultan perjudiciales, y su inhibición representa una terapia potencial (Ferrara, 2004; Vrachnis y cols., 2013).

El PIGF favorece la angiogénesis miocárdica y la quimiotaxis de monocitos y macrófagos a nivel vascular. Ante situaciones de isquemia en animales de experimentación, la ausencia de PIGF reduce la angiogénesis y arteriogénesis, el número de macrófagos en las áreas infartadas y la neovascularización en animales de experimentación (Carmeliet y cols., 2001). En estos casos, la terapia génica intracardiaca con PIGF mejora la recuperación, estimulando no sólo la angiogénesis local, sino también la vasculogénesis y cardiomiogénesis mediante el reclutamiento de progenitores desde la médula ósea (Iwasaki y cols., 2011).

A nivel óseo, el PIGF ejerce efectos beneficiosos en la reparación de fracturas mediante la proliferación y diferenciación osteogénica de progenitores mesenquimales y la remodelación del nuevo hueso por parte de los osteoclastos (De Falco, 2012).

Durante el ciclo estral, la expresión local de PIGF en el ovario se relaciona con el desarrollo folicular y la vascularización del CL. De hecho, las concentraciones foliculares de PIGF en la mujer se incrementan con el tamaño folicular, sugiriendo la influencia sobre la angiogénesis folicular y la contribución a la maduración del oocito y el desarrollo del futuro folículo dominante (Hou y cols., 2014). De la misma forma, la expresión de PIGF en las células de la granulosa y teca de los folículos aumenta con el tamaño folicular, no detectándose en los atrésicos en vacas (Hayashi y cols., 2010). En roedores transgénicos, aunque la falta de PIGF provoca menor vascularización del CL, no causa insuficiencia funcional ni alteraciones en el desarrollo, reproducción o vida postnatal, la respuesta angiogénica y arteriogénica puede verse perjudicada (Carmeliet y cols., 2001).

El PIGF promueve la cicatrización de heridas (Luttun y cols., 2002; Carmeliet y cols., 2001; Ribatti y cols., 2008), la circulación colateral e infiltración monocitaria en tejidos isquémicos (Gigante y cols., 2006), tumores (Fisher y cols., 2007), placas ateroscleróticas (Khurana y cols., 2005), fracturas óseas (Maes y cols., 2006) y leucocitos sinoviales en artropatías inflamatorias (Bottomley y cols., 2000). No obstante, este factor también potencia la inflamación al aumentar la permeabilidad vascular (Yano y cols., 2008) e inhibe la acumulación de leucocitos en el hígado en situaciones de sepsis (Yano y cols., 2008). En estos casos, el PIGF aumenta en plasma y se expresa

mayoritariamente en cerebro, pulmón, corazón, hígado, bazo y riñón, sugiriendo una función protectora sobre el organismo, ya que los animales deficitarios presentan niveles anormalmente elevados de VEGF-A, mayor depresión cardíaca y alteraciones vasculares en distintos órganos, traduciéndose en una menor tasa de supervivencia (Yano y cols., 2006; 2008).

2.4.2.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS

En conocimiento de los autores, hasta la actualidad no existen valores de referencia sobre las concentraciones plasmáticas de este factor en la yegua. Sin embargo, aunque en mujeres ingravidas el PIGF circulante es indetectable (Yano y cols., 2008), se eleva considerablemente durante la gestación (Romero y cols., 2008).

2.4.3.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN

En mujeres gestantes, los niveles plasmáticos de PIGF se incrementan drásticamente desde el primer al tercer trimestre, alcanzan valores máximos entre las 26 y 30 semanas y descienden progresivamente hacia el momento del parto (Sundrani y cols., 2013; Vrachnis y cols., 2013). Como se ha expresado previamente, el PIGF junto con otros factores angiogénicos se considera un elemento esencial en las adaptaciones cardiovasculares que tienen lugar en la gestante, especialmente en la remodelación de las arterias espirales uterinas. Tanto la implantación embrionaria como la placentación requieren el desarrollo de la red vascular necesaria para asegurar el correcto intercambio de nutrientes entre la madre y el feto (Gourvas y cols., 2012; Vrachnis y cols., 2013). A los 21 días tras la concepción, las vellosidades placentarias comienzan a vascularizarse debido a la formación de capilares *de novo* en respuesta a los factores angiogénicos expresados por los macrófagos, leucocitos y la decidua materna. De forma sincrónica, la vasculatura uterina sufre una serie de modificaciones que incluyen vasodilatación, aumento de permeabilidad y crecimiento, ineludibles para incrementar el aporte sanguíneo. En esta etapa, el ambiente relativamente hipóxico que protege al feto del estrés oxidativo estimula la secreción de VEGF-A, VEGFR-1, sVEGFR-1 y VEGFR-2, facilitando la angiogénesis ramificada, que se caracteriza por la ramificación lateral de los vasos preexistentes, y conlleva a la formación de una red capilar. No obstante, los niveles adecuados de oxígeno durante el segundo trimestre estimulan la producción de PIGF y predomina la angiogénesis no ramificada, en la cual se forman vellosidades intermedias que forman una red vascular de baja resistencia facilitando el aporte de nutrientes y de oxígeno al feto (Gourvas y cols., 2012; Vrachnis y cols., 2013).

El PIGF se expresa concretamente en el epitelio glandular y luminal, observándose elevadas concentraciones en la superficie apical de las glándulas secretoras y en el fluido uterino durante el periodo de receptividad implantacional. Este hallazgo, unido a los efectos del factor sobre el desarrollo embrionario y la adhesión endometrial, sugieren la influencia de dichos factores en las primeras interacciones que acontecen entre el blastocisto y el endometrio materno (Binder y cols., 2016). Asimismo, el PIGF se expresa en las subpoblaciones leucocitarias de las vellosidades trofoblásticas, membrana vasculosinicial y túnica media de los grandes vasos (Ribatti, 2008; Binder y cols., 2016). La coexpresión de este factor junto a su receptor VEGFR-1 a nivel de la vasculatura y del estroma, así como la actividad quimiotáctica sobre los leucocitos, refuerza la hipótesis de la implicación del PIGF en la remodelación de las arterias espirales, necesarias para el establecimiento de la gestación (Binder y cols., 2016). Cabe destacar que la incapacidad del trofoblasto para invadir correctamente la decidua materna provoca remodelación insuficiente de la vasculatura e hipoperfusión placentaria. En consecuencia, el PIGF se considera una herramienta en el diagnóstico precoz de la disfunción placentaria (Espinoza y cols., 2007; Kasdaglis y cols., 2010). De hecho, diversas patologías en la gestante como, restricción del crecimiento intrauterino, parto prematuro y preeclampsia cursan con disminución de los niveles de PIGF (Vrachnis y cols., 2013; Atzeni y cols., 2013) y menor expresión de factores angiogénicos a nivel placentario (Andraweera y cols., 2012) durante la primera mitad de la gestación (Romero y cols., 2008; Vrachnis y cols., 2013). En pacientes con preeclampsia, el PIGF se reduce e incrementa la forma soluble del VEGFR-1 antes y durante el curso de la enfermedad (Levine y Karumanchi, 2005; Jeevaratnam y cols., 2010). En estas situaciones, la realización de estudios morfométricos sobre la vasculatura placentaria ha revelado una correlación inversa entre el PIGF y la capilarización, hallazgo que refleja una respuesta compensatoria a la falta de vascularización (Jeevaratnam y cols., 2010). Recientemente, Makris y cols. (2016) han mostrado que la administración de PIGF recombinante en pacientes con preeclampsia experimental reduce la presión sistólica y la proteinuria asociados a la enfermedad.

En la yegua el tipo de placentación es epiteloconal difusa no invasiva. El desarrollo de la red capilar fetal y materna en la interfaz placentaria maximiza la extensión y eficiencia del intercambio hemotrófico (Abd-Elnaeim y cols., 2006). Además, al igual que en la mujer el desarrollo vascular es bifásico en la yegua, iniciándose con una angiogénesis ramificada en las vellosidades coriónicas, seguida de la elongación no ramificada de dichos capilares en el segundo periodo de gestación (Abd-Elnaeim y cols., 2006). En este sentido, los factores angiogénicos como, el VEGF-A se expresan en el epitelio glandular y luminal, así como en el trofoblasto, incrementándose alrededor del día 38, coincidiendo con la formación de los cálices endometriales y el consiguiente aumento

de secreción de estrógenos en respuesta a la eCG (Allen y cols., 2007). El incremento de VEGF en este estadio podría relacionarse con el desarrollo de la red vascular en la base de cada uno de los cálices endometriales, necesaria para transportar eficazmente la eCG al torrente sanguíneo (Allen y cols., 2007).

Aunque el patrón de expresión para el VEGFR2 es débil o ausente en yeguas cíclicas, se expresa fuertemente en el endotelio, lumen, epitelio glandular y células del estroma en yeguas gestantes, sugiriendo el papel del VEGF en los cambios vasculares endometriales durante la preñez (Silva y cols., 2011). Además, el VEGFR2 se correlaciona positivamente con los niveles de estrógenos y VEGF (Hervé y cols. 2006), lo cual indica la influencia de los estrógenos sintetizados por parte del concepto (Silva y cols., 2011). Por el contrario, Allen y cols. (2007) no han mostrado variaciones en la expresión de los receptores VEGFR1 y VEGFR2 entre yeguas cíclicas y gestantes. No obstante, la presencia de estos receptores en el epitelio glandular y luminal del endometrio materno y trofoblasto, sugieren el papel de este factor en el desarrollo vascular, permitiendo el correcto intercambio de gases, nutrientes y sustancias de desecho entre la yegua y el feto durante la gestación.

2.5.-HORMONAS ADRENALES

2.5.1.-CORTISOL

El CORT es una hormona esteroidea o glucocorticoide producido por la glándula adrenal. La liberación de CORT está controlada por el CRH hipotalámico, que actúa sobre la hipófisis, desencadenando la secreción de la ACTH. La ACTH es transportada vía sanguínea hasta la corteza adrenal (Martin y Crump, 2003). La unión de la ACTH a su receptor específico MCR-2 a nivel de la zona fascicular incrementa la fosforilación de proteínas esteroidogénicas, incluyendo la proteína reguladora de la respuesta esteroidea aguda (StAR), implicada en el transporte de colesterol al interior de la mitocondria y posterior conversión a P_5 . La P_5 difunde al retículo endoplásmico en el que mediante una serie de rutas enzimáticas se transforma en 17-OH P_5 , 17-OH P_4 y 11-desoxicortisol. Este último difunde de nuevo a la mitocondria en la que es transformado a CORT (Walker y cols., 2015). Una vez sintetizado, la mayor parte del CORT se une rápidamente a la CBG, siendo la fracción libre (5-10%) la forma biológicamente activa (Guyton y Hall, 2006).

El CORT controla la respuesta del eje HHA al estrés y su propia síntesis adrenal mediante mecanismo feedback negativo. A tal fin, el CORT regula directa e indirectamente la actividad de las neuronas del núcleo paraventricular, inhibiendo la expresión y secreción de CRH, la producción

de ACTH y de su precursor (POMC) a nivel de las células corticotropas de la adenohipófisis y la glándula adrenal (Walker y cols., 2015).

En équidos, la ADR puede modificar la secreción de CORT. Concretamente, Colborn y cols. (1991) mostraron que la administración exógena de ADR produce incremento rápido de la cortisolemia, sugiriendo cierta interacción de la ADR con las vías neuronales que estimulan la secreción de CRH y/o ACTH.

2.5.1.1.-EFECTOS DEL CORTISOL

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. Al tratarse de un glucocorticoide, el CORT desempeña funciones básicas a nivel del metabolismo energético, como (Guyton y Hall, 2006):

-Estimulación de la gluconeogénesis hepática. Esta circunstancia se produce por el incremento de actividad de las enzimas gluconeogénicas e inhibición simultánea de las enzimas hepáticas insulino-dependientes. 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. Este esteroide también refuerza los efectos del glucagón y la ADR sobre la disponibilidad de glucosa e inhibe la acción de la insulina sobre el metabolismo energético (Martin y Crump, 2003).

-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 parte del tejido muscular y adiposo (Martin y Crump, 2003).

A nivel del metabolismo proteico, los efectos básicos son los siguientes:

-Reducción de las proteínas celulares. El CORT disminuye las reservas proteicas en casi todas las células, excepto en las hepáticas. 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 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 GH, esencial para el desarrollo muscular, diferenciación y funcionalidad celular (Toribio, 2004; Guyton y Hall, 2006).

-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 sangre periférica, 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 (Martin y Crump, 2003; Toribio, 2004).

-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. 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 (Cunningham, 2003; Toribio, 2004; Guyton y Hall, 2006).

Sobre el 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 para el depósito y mantenimiento de triglicéridos en dichas células y en su ausencia, los adipocitos comienzan a liberar ácidos grasos (Guyton y Hall, 2006).

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, ADR y GH, incrementando la movilización de ácidos grasos (Martin y Crump, 2003; Toribio, 2004).

A nivel del sistema endocrino, el CORT interactúa con otras hormonas como, la insulina, el glucagón y la ADR, 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 ADR. La combinación de dichos efectos puede inducir hiperglucemia, que si persiste en el tiempo, podría favorecer la presencia del síndrome metabólico periférico (Durham, 2016).

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).

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).

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).

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 tasa de filtración glomerular (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 CRH y AVP. La disminución de AVP conduce a un incremento de la excreción de orina, por aumento de la

TFG. Por este motivo, la poliuria es un síntoma clínico asociado a la hipersecreción de glucocorticoides, como sucede en el Síndrome de Cushing (Toribio, 2005; Rendle y cols., 2015).

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 (Cunningham, 2003; Martin y Crump, 2003).

Los glucocorticoides son poderosos inhibidores del sistema inmunitario, limitando la secreción de citoquinas por parte de 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 (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, 2006).

2.5.1.2.-MODIFICACIONES FISIOLÓGICAS DEL CORTISOL

2.5.1.2.1.-RAZA

Aunque se desconoce si la raza es un factor regulador de la cortisolemia en el caballo, Soder y cols. (2012) detectaron diferencias significativas entre équidos Standarbred ($68,1 \pm 22,8$ ng/ml) e Icelandic (25,4 ng/ml). Estas diferencias en principio fueron atribuidas a las variaciones genéticas así como a las condiciones de manejo existentes entre ambas razas.

2.5.1.2.2.-EDAD

Como sucede en otras especies animales, el avance de la edad se correlaciona positivamente con los niveles plasmáticos de CORT en équidos (Donaldson y cols., 2005). En el apartado correspondiente a la ACTH se ha expresado que la senectud se asocia con una pérdida de sensibilidad adrenal a la dexametasona y mayor sensibilidad a la CRH en équidos y animales de experimentación (Hatzinger y cols., 1996; Gust y cols., 2000; Donaldson y cols., 2005).

Sin embargo, aunque la respuesta adrenal al ejercicio provoca pérdida de sensibilidad a la ACTH en yeguas longevas (Cordero y cols., 2012; Liburt y cols., 2013), Satué y cols. (2007) no revelaron variaciones significativas de la cortisolemia con el avance de la edad en yeguas PRE.

2.5.1.2.3.-RITMOS CIRCADIANOS

El CORT presenta un patrón circadiano y ultradiano, con niveles máximos durante la mañana o la tarde, respectivamente (DePew y cols., 1994; Irvine y Alexander, 1994). No obstante, se han detectado niveles máximos entre las 6.00-10.00 horas y mínimos entre las 18.00-21.00 horas (Evans y cols., 1977; Larsson y cols., 1979; Irvine y Alexander, 1994; Cordero y cols., 2012). Este patrón está sometido a la influencia de la edad y la estacionalidad, situaciones de estrés, ejercicio o enfermedad generalizada (Lassourd y cols., 1996; Ingram y cols., 1999; Haritou y cols., 2008).

2.5.1.2.4.-CONDICIONES DE MANEJO

Diversas situaciones asociadas al manejo de los animales como, el transporte (Baucus y cols., 1990), el uso de inmovilizadores (Colborn y cols., 1991), el destete (Erber y cols., 2012) y el estrés social (Alexander e Irvine, 1998) estimulan la secreción de CORT. Asimismo, se han hallado niveles superiores de CORT plasmático y salivar en yeguas estabuladas frente a las que habitan en praderas (Haupt y cols., 2001; Harewood y McGowan, 2005), independientemente del régimen de alimentación (Stull y Rodiek, 1988; Storer y cols., 2007; Widman, 2010). No obstante, el efecto de la estabulación sobre la cortisolemia no ha sido detectado en otros estudios (Mal y cols., 1991), sugiriendo que la cronicidad del estímulo estresante puede disminuir la respuesta del eje HHA (Harewood y McGowan, 2005).

Adicionalmente, el estrés sexual incrementa el CORT en sementales, por lo que no se descarta que la proximidad de las hembras a sementales durante la estación reproductiva influya sobre los niveles basales de CORT en las yeguas (Colborn y cols., 1991; Harewood y McGowan, 2005).

2.5.1.2.5.-ESTACIONALIDAD

En équidos, aunque algunos estudios no han mostrado patrones estacionales (Haritou y cols. 2008; Place y cols., 2010), la mayoría de investigadores describen una marcada estacionalidad, caracterizada por niveles máximos de CORT entre los meses de mayo y septiembre (Gill y cols., 1985; Donaldson y cols., 2005; Fazio y cols., 2009; Cordero y cols., 2012). Se sugiere que este patrón podría reflejar las adaptaciones encaminadas a preparar al organismo a la menor

disponibilidad de nutrientes durante el invierno, y de forma paralela, aumentar las reservas alimenticias en el periodo de mayor actividad reproductiva (Donaldson y cols., 2005; Cordero y cols., 2012). Como ha sido expresado previamente, el CORT ejerce un papel significativo en el metabolismo energético y la respuesta al estrés, de forma que la secreción puede verse alterada ante condiciones ambientales de extrema temperatura o humedad (Williams y cols., 2002). No obstante, el patrón estacional del CORT y la ACTH no están correlacionados, detectándose niveles máximos de ACTH durante el otoño (Donaldson y cols., 2005; Place y cols., 2010; Cordero y cols., 2012). Esta disincronía en el eje HHA podría ser resultado de alteraciones en la sensibilidad adrenal, cambios en el metabolismo del CORT o variaciones estacionales en la bioactividad de la ACTH. De hecho, Donaldson y cols. (2005) han descrito pérdida de sensibilidad del eje HHA a la dexametasona durante el periodo otoñal.

2.5.1.2.6.-EJERCICIO FÍSICO

La actividad del eje HHA se incrementa con el ejercicio físico, reflejándose en la elevación de los niveles plasmáticos de ACTH y CORT. Sin embargo, el aumento de CORT es tardío y significativamente inferior al de ACTH, hecho relacionado con la respuesta adrenocortical limitada o a la secreción de sustancias análogas a la ACTH con menor bioactividad (Kurosawa y cols., 1998; Marc y cols., 2000). En relación a estos acontecimientos, los efectos de los glucocorticoides sobre el metabolismo de la glucosa pueden ser importantes para el rendimiento durante el ejercicio, aunque pueden indicar el nivel de estrés asociado al esfuerzo físico del entrenamiento (Marc y cols., 2000; Malinowski y cols., 2006).

2.5.1.3.-VALORES DE REFERENCIA EN ÉQUIDOS

En équidos adultos sanos se han detectado concentraciones plasmáticas medias de CORT que oscilan entre $12,32 \pm 2,07$ (Ayala y cols., 2012) y $68,1 \pm 22,8$ ng/ml (Soder y cols., 2012). En yeguas PRE gestantes, Satué y cols. (2011) revelaron valores mínimos y máximos de CORT de $30,31 \pm 12,57$ ng/ml y $75,64 \pm 12,03$ ng/ml, respectivamente.

2.5.1.4.-MODIFICACIONES DURANTE LA GESTACIÓN

En la yegua se han estudiado las variaciones de la cortisolemia a lo largo de la gestación en distintas razas, como en PRE (Satué y cols., 2007; 2011), Quarter Horse (Harvey y cols., 1994), Standardbred (Hoffsis y cols., 1970; Flisinska-Bojanowska y cols., 1991, a, b; Gill y cols., 1994), PSI

(Tsumagari y cols., 1991; Harvey y cols., 1994; Fazio y cols., 2009) y Árabes (Gill y cols., 1985). La mayoría de dichos estudios concluyen que los niveles de CORT durante la primera mitad de la gestación son superiores a los de la segunda mitad (Gill y cols., 1985; Flisinska-Bojanowska y cols., 1991, a; Tsumagari y cols., 1991; Gill y cols., 1994; Satué y cols., 2011). A pesar de ello, los niveles de CORT descienden en yeguas gestantes frente a las ingravidas (Gill y cols., 1985; Cudd y cols., 1995; Montesinos, 2012), si bien, esta idea no es defendida por todos los investigadores (Hoffsis y cols., 1970; Fazio y cols., 2009).

Este incremento de la cortisolemia durante la gestación está relacionado con el efecto dual de la síntesis de ACTH (Cousins y cols., 1983). En la mujer, el incremento en la secreción de esteroides adrenales durante el tercer periodo de gestación se asocia con la secreción placentaria de CRH. De cualquier forma, esta observación parece controvertida, pues Allolio y cols. (1990) asumieron que los niveles de CRH derivados de la placenta casi no afectaban a la función adrenocortical en este mismo periodo, aunque no excluyeron dichos efectos. Dicho incremento de la cortisolemia durante la segunda mitad de la gestación en la yegua se ha relacionado con el aumento de progestágenos, en respuesta a la mayor actividad adrenocortical fetal (Fazio y cols., 2009) y a la competición de ambos esteroides por las CBG (Guo y cols., 2009).

El periodo gestacional se asocia con un estado de resistencia a la insulina, como consecuencia de los efectos anti-insulínicos del CORT, GH, lactógeno y GH placentaria (Hoffman y cols., 2003; George y cols., 2011), cuya finalidad es incrementar la glucemia para mejorar la transferencia placentaria y atender las demandas impuestas por el feto en desarrollo (Fowden y cols., 2005). De hecho, las yeguas sometidas a regímenes de restricción hídrica y alimenticia presentan mayor incidencia de abortos, no correlacionándose con alteraciones en los niveles de CORT sino más bien con los cambios metabólicos asociados a la menor biodisponibilidad de glucosa y el incremento de ácidos grasos libres, que podrían estimular la síntesis de prostaglandinas y ácido araquidónico (Hedberg y cols., 2005).

Por el contrario, la elevación de CBG (Jung y cols., 2011), la disminución de la producción y el incremento en el volumen de distribución (Nolten y cols., 1980; Little, 2006), el aumento del metabolismo fetal y los efectos antigluco corticoideos de la P_4 , podrían estar relacionados con el descenso del CORT que se manifiesta durante el último periodo de gestación, describiéndose una correlación inversa entre ambas hormonas esteroideas (Tsumagari y cols., 1991; Satué y cols., 2011). En mujeres obesas, esta reducción del aclaramiento del CORT a su vez podría indicar una menor actividad del eje HHA (Stirrat y cols., 2016).

Al final de la gestación, el CORT materno se eleva substancialmente los días previos al parto asociado con la transferencia de dicho esteroide tras el incremento de actividad de la adrenal fetal y los cambios maduracionales necesarios para la correcta adaptación del feto a la vida extrauterina (Nagel y cols., 2012).

MATERIAL Y MÉTODOS

3.-MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.-MATERIAL ANIMAL. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LOS ANIMALES

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. La cuantificación de los diversos factores de crecimiento y actividad de las distintas hormonas consideradas en el estudio se ha realizado en el Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Fisiología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

Se han estudiado un total de 33 yeguas PRE con edades comprendidas entre 5 y 17 años, elegidas libremente al azar dentro del efectivo reproductor de las citadas ganaderías.

Previo a la extracción de las muestras sanguíneas, se procedió a realizar una exploración física general, en la que se valoraron las constantes vitales: temperatura, frecuencia cardiaca y respiratoria, tiempo de relleno capilar y estado de las mucosas, para descartar la existencia de cualquier tipo de patología sistémica. Los criterios de inclusión de los animales en el estudio fueron los siguientes:

- Historial reproductivo: regularidad de ciclos estrales, partos previos normales, potros nacidos viables, ausencia de patologías de origen reproductivo, como endometritis, piómetra,

placentitis, mamitis o mastitis, u otros procesos inflamatorios que hubiesen causado pérdida de fertilidad en estaciones reproductivas precedentes.

- Carencia de procesos inflamatorios e infecciosos de cualquier otro origen o que hubiesen requerido hospitalización un mes antes del 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 en el programa de desparasitación y vacunación periódicos.

- Fueron excluidas del estudio aquellas yeguas mayores de 17 años, con defectos de conformación perineal y vulvar, antecedentes de neumovagina, endometritis, distocias y tumores ováricos, que al mismo tiempo hubiesen causado infertilidad.

En todos los casos, los propietarios aceptaron la participación voluntaria en la investigación y firmaron su consentimiento previamente informado.

3.2.-CONDICIONES DE CRÍA Y ALIMENTACIÓN

Todos los animales incluidos en el estudio fueron sometidos a condiciones similares de manejo, alimentación y control reproductivo, con pequeñas variaciones según las preferencias de cada yeguada en relación al momento del ciclo reproductor. Ninguna de las yeguas llevó a cabo un programa de ejercicio físico reglado desde su nacimiento hasta alcanzar la madurez reproductiva. Una vez alcanzada la edad de 4 años, las yeguas fueron destinadas a la reproducción, siendo esta la única actividad desarrollada hasta el inicio de la presente investigación.

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

Mes	Tª	Humedad	Periodo solar
ABRIL 2009	16,5	59	67
MAYO 2009	20,0	62	68
JUNIO 2009	24,1	51	67
JULIO 2009	25,5	56	62
AGOSTO 2009	24,7	55	61
SEPTIEMBRE 2009	22,0	57	64
OCTUBRE 2009	19,1	65	50
NOVIEMBRE 2009	12,3	63	47
DICIEMBRE 2009	9,4	60	49

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*).

Las yeguas permanecieron en boxes individuales para la realización de la monitorización ecográfica diaria con la finalidad de detectar el día de la ovulación y el establecimiento y maduración del CL. A lo largo de la gestación permanecieron sueltas en la pradera, con libre acceso a las naves de estabulación según las condiciones climatológicas y momento del año. La alimentación administrada a las yeguas se estableció en función de las necesidades nutritivas, según la edad y el estado reproductivo. Durante el periodo de toma de muestras, las yeguas recibieron una dieta diaria consistente en la combinación de fibra y pienso concentrado. Las cantidades diarias de concentrado fueron de 4 a 6 kg divididas en dos raciones. La fibra la proporcionaron de 2 a 3 kg de heno de alfalfa y paja. El consumo de agua fue *ad libitum*.

3.3.-MANEJO REPRODUCTIVO DE LAS YEGUAS

Las yeguas comenzaron a chequearse a partir del momento en el que empezaron a manifestar signos de celo, sometándose para ello a exploraciones colposcópicas, evaluando aspectos como el diámetro longitudinal de la vulva, edematización de los labios vulvares, tono del cuello uterino, características del moco cervical, etc. Mediante examen ecográfico se llevó a cabo el control diario del desarrollo folicular, utilizando una sonda transrectal (*Ecógrafo: Sonosite 180*

Plus; Sonda transrectal 5 MHz) hasta el momento de la ovulación. Las yeguas que presentaron diámetros foliculares superiores a 40 mm fueron inseminadas con semen refrigerado de los sementales de las mismas ganaderías. La confirmación de la ovulación se realizó a las 48 horas. En ningún caso fueron utilizados tratamientos hormonales de sincronización de los ciclos ováricos, considerando únicamente los ciclos estrales desarrollados de forma natural. El diagnóstico de gestación se realizó a los 15 días post-cubrición y la confirmación del mantenimiento de la preñez fue efectuado a los 2 meses.

El parto en todas las yeguas ocurrió de forma natural, los potros nacidos fueron viables y no hubo incidencias a resaltar durante el periodo postparto.

3.4.-OBTENCIÓN Y MANEJO DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS

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

Las muestras sanguíneas fueron extraídas siguiendo una pauta mensual, con intervalos de 30 días entre la toma de muestras.

La recogida de las muestras se llevó a cabo mediante punción en la vena yugular externa, utilizando jeringas desechables con cono luer (*Discardit® II BectonDickinson*) de 20 ml y agujas de 40 mm de longitud y de calibre 18-20 G (*Sterican®, Braun Melsungen AG*).

Debido a que uno de los objetivos de la presente investigación ha sido evaluar las modificaciones asociadas a la gestación de los niveles de CORT y que los ritmos circadianos desencadenan variaciones diarias importantes de dicho parámetro, la toma de muestras se realizó siempre durante la mañana, entre las 8:00 y las 11:00 horas. Todas las extracciones se llevaron a cabo en condiciones de ayuno.

En cada extracción, se obtuvo un volumen de 20 ml de sangre venosa, que fue introducida en tubos con tubos de vidrio con activadores de la coagulación y gránulos PS para desuerado (*Tapval®*). Las muestras debidamente protegidas de la luz fueron refrigeradas a 4°C durante su recogida y posterior transporte al laboratorio. Las muestras fueron centrifugadas (*Centrifuga P Selecta®*) a 3.500 rpm durante 10 minutos, para la obtención de suero, necesario para el análisis de los diversos factores y hormonas. Tras la centrifugación, se trasvasó el sobrenadante a tubos eppendorf debidamente rotulados. Las muestras fueron congeladas a -20°C y enviadas al Laboratorio de Fisiología de la Universidad Complutense de Madrid para su cuantificación.

3.5.-ANÁLISIS LABORATORIAL

En este estudio se han determinado las concentraciones de neurotransmisores (ADR, NORADR, 5-HT y DA), hormonas hipofisarias (ACTH y GH), IGF-1, placentarias (A₄, DHEA, T, E₁S y P₄), PIGF y adrenales (CORT). A continuación, se especifican los procedimientos de determinación y las características de los análisis empleados.

3.5.1.-Neurotransmisores

Para la determinación de las concentraciones de ADR (ng/ml), NORADR (ng/ml) y DA (pg/ml) se utilizó un método EIA (*enzyme immuno assay*) de competición con extracción previa de la muestra, validado específicamente para la especie equina (*3-CAt EIA; Demeditec, Diagnostics GmbH, Germany*). La técnica se basa en la extracción de catecolaminas aciladas y derivatizadas enzimáticamente del suero, mediante un gel de afinidad específico (*cis-diol specific affinity gel*). La técnica EIA de competición se basa en la competición que se establece entre las catecolaminas de la muestra y las catecolaminas fijadas a la fase sólida (*microplaca de EIA*), por unirse a los sitios de unión de un anticuerpo específico para cada una de las catecolaminas, producido en conejo. El complejo catecolamina-anticuerpo unido a la fase sólida es detectado por la anti-IgG peroxidasa y la reacción enzimática sustrato/peroxidasa se mide posteriormente a 450 nm. El color desarrollado será inversamente proporcional a la concentración de catecolaminas contenida en las muestras. El límite de detección y los porcentajes de recuperación para ADR, NORADR y DA fueron de 10 pg/ml, 50 pg/ml y 5 pg/ml y 92,0, 97,0 y 90,0%, respectivamente. Los CV intra-análisis fueron del 15,0, 16,1 y 9,5% a bajas concentraciones, y 6,9, 9,8 y 15,8 %, a elevadas concentraciones. Los CV inter-análisis fueron del 13,2, 8,5 y 15,9% a bajas y 15,4, 15 y 18% a altas y bajas concentraciones para catecolaminas, de forma respectiva. Los anticuerpos anti-ADR, anti-NORADR y anti-DA empleados muestran reactividad cruzada con la metanefrina, normetanefrina, 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol-tiramina, fenilalanina, cafeína, L-DA, ácido homovanílico, tirosina, y ácido 3-metoxi-4-hidroximandélico en un rango inferior al 0,64%. En diluciones seriadas hasta 1:64, la linealidad mostró un rango de concentración de 4,9 a 339 ng/ml, 1,3 a 81,4 ng/ml y 14,0 a 917 pg/ml, para ADR, NORADR y DA, respectivamente.

Las concentraciones de 5-HT (ng/ml) fueron determinadas mediante EIA de competición con extracción previa de la muestra, validado específicamente para la especie equina (*Serotonin-EIA; Demeditec, Diagnostics GmbH, Germany*). Previamente a la realización del análisis, la 5-HT sufre un proceso de acilación. La técnica se fundamenta en la competición que se produce entre la 5-HT de la muestra y la fijada a la fase sólida, por unirse a los lugares de unión de un anticuerpo

específico para la 5-HT, producido en conejo. El complejo 5-HT-anticuerpo unido a la fase sólida es detectado por la anti-IgG peroxidasa y la reacción enzimática sustrato/peroxidasa es medida posteriormente a 450 nm. El color desarrollado será inversamente proporcional a la concentración de 5-HT contenida en las muestras. El límite de detección de la técnica fue de 5,0 ng/ml y el porcentaje de recuperación del 97%. Los CV intra e inter-análisis fueron del 5,4 a 6% a bajas, y del 3,9 a 6% a elevadas concentraciones, respectivamente. Los anticuerpos anti-5-HT muestran reactividad cruzada con la tryptamina, melatonina, fenilalanina, histidina, tyramina y 5-hidroxi-triptófano en un rango inferior al 0,19%. En diluciones seriadas hasta 1:16, el rango de concentración para este parámetro osciló entre 40 y 860 ng/ml.

3.5.2.-Hormonas hipofisarias

La ACTH (pg/ml) se determinó mediante una técnica inmunoenzimática competitiva estreptavidina-biotina (*Phoenix peptide ACTH human Fluorescent Immunoassay Kit FEK-001-01*) validada para muestras de suero equino, por su homología con la ACTH humana. El principio de la técnica se basa en que a nivel de la microplaca tapizada con un anticuerpo secundario (anti-IgG de conejo) es capaz de unirse al fragmento Fc del anticuerpo primario (anticuerpo anti-ACTH producido también en conejo), de tal forma que, al añadir la muestra a analizar, el fragmento Fab del anticuerpo, es capaz de reconocer la ACTH. En un segundo paso, se añaden las muestras/ los estándares/los controles en distintos pocillos de la microplaca junto con una cantidad fija de ACTH biotinilada, que competirá con la ACTH sin marcar, por unirse al anticuerpo. Posteriormente, se añade el conjugado estreptavidina-peroxidasa, que se unirá a la ACTH biotinilada unida al anticuerpo primario de la microplaca. Esta unión se pone de manifiesto al añadir la solución de sustrato, desarrollándose una fluorescencia cuya intensidad será inversamente proporcional a la concentración de ACTH de la muestra. El límite de detección de la muestra es de 9,6 pg/ml y el porcentaje de recuperación del 100,5%. Los CV intra-análisis e inter-análisis fueron inferiores al 10 y al 15%, respectivamente. Esta técnica muestra reacción cruzada con las β -endorfinas, aunque inferior al 1%. Las diluciones seriadas en un pool de muestras de suero equino (1:25; 1:5,1:10; 1:20; 1:40; 1:80 y 1:160) mostraron linealidad en la técnica en el rango 14,7 a 1.828 pg/ml.

Las concentraciones de GH (ng/ml) fueron determinadas mediante EIA sandwich de un solo sitio. Esta técnica utiliza un primer anticuerpo específico frente a GH equina producido en ratón (*Endocrinotech. Newark CA, USA*), que se adhiere a los pocillos de la microplaca. Sobre este primer anticuerpo se hace reaccionar simultáneamente en los distintos pocillos la hormona GH, que se añade en cantidades estándares en la muestra a analizar la GH, junto con el conjugado,

formado por un segundo anticuerpo específico frente a GH, unido a la enzima peroxidasa, producido en ratón. La GH quedará unida entre los dos anticuerpos al final de la reacción y, al añadir el substrato cromógeno tetrametilbencidina (*TMB; Neogen; USA*), se desarrollará un color, cuya intensidad será directamente proporcional a la cantidad de GH que se haya quedado unido a los dos anticuerpos. El porcentaje de recuperación de cantidades conocidas de la muestra fue del 99,5% y el límite de detección de la técnica de 0,2 ng/ml. Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron inferiores al 5 y al 10%, respectivamente. Este procedimiento presenta reactividad cruzada con la GH porcina (0,24%) y GH bovina, humana y ovina (< 0,01%).

Los niveles séricos de IGF-1 (ng/ml) se analizaron mediante ELISA de competición (*DRG® International Inc, IGF-1 equino, EIA-3982, USA*) validada con carácter específico para équidos, siguiendo las instrucciones del fabricante. Esta técnica utiliza anticuerpos que presentan una elevada afinidad y especificidad frente a dos epítomos del IGF-1. Un primer anticuerpo monoclonal anti-IGF-1 unido a los pocillos de la microplaca (*microtiter plate MAb IGF-1*) captura el IGF-1 de la muestra. Posteriormente, se añade un segundo anticuerpo monoclonal anti IGF-1 conjugado a una enzima, la fosfatasa alcalina. Después de un periodo de incubación en el que se forman los complejos sándwich, el exceso de reactivos se elimina mediante un lavado. Una vez eliminado el exceso de reactivo, se añade el sustrato/cromógeno y se desarrolla un color que será directamente proporcional a la concentración de IGF-1 existente en la muestra. Como la proteína de unión IGFBP-3 interfiere en la determinación de IGF-1, es necesario realizar una extracción previa de la muestra, utilizando para ello una solución de etanol ácido, con el fin de separar el IGF1 de la proteína de unión. El límite de detección de la técnica fue de 4,9 ng/ml. Los coeficientes de variación intra-ensayo quedaron comprendidos entre 7,8% y 11,3%, a bajas concentraciones y entre 9,7% y 13,7% a altas concentraciones. El porcentaje de recuperación a elevadas y bajas concentraciones de IGF-1 fue de 101,3% y 103,0%, respectivamente. Este procedimiento laboratorial muestra una elevada especificidad para el IGF-1 equino. No obstante, presenta reactividad cruzada con el IGF-II, insulina y GH, aunque con porcentajes de recuperación inferiores a 0,01, 0,1 y 0,1%, respectivamente. Las diluciones seriadas de un pool de muestras de suero equino (1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32) mostraron linealidad en la técnica hasta la dilución 1:16.

3.5.3.-Hormonas placentarias

Las concentraciones de A_4 (ng/ml), DHEA (ng/ml) y T (ng/ml) fueron determinadas mediante técnicas EIA utilizando anticuerpos policlonales (*anti-T: R156; anti. A_4 : C9111 y anti-DHEA: C1011*), y conjugados hormona-peroxidasa (conjugado de T: *T3CMO-HRP*; conjugado de A_4 :

A3CMO-HRP y conjugado de DHEA: *DHEA17CMO-HRP*) obtenidos y caracterizados en el Departamento de Fisiología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid. La validación de los parámetros de la técnica de EIA para la T, A₄ y DHEA en suero equino se basó en la técnica propuesta previamente por Munro y Lasley (1988). La técnica se fundamenta en la dilución del anticuerpo en tampón carbonato/bicarbonato hasta llegar a la dilución correspondiente. A continuación, se tapizan los pocillos con 100 µl excepto el pocillo A1 que se deja como blanco. Tras el sellado e incubación de las placas a 4 °C durante 16 horas, se lava tres veces con solución de lavado (200 µl por pocillo) para eliminar el exceso de anticuerpo que no se fija a la placa. La reacción se produce entre la hormona libre, ya sea de la muestra o estándar, y la hormona conjugada a la enzima. Se diluye el conjugado en solución tampón EIA. A continuación, se procede a diluir las muestras en la solución de conjugado (50 µl) en 250 µl de conjugado, homogeneizando la muestra cuidadosamente mediante un agitador (*Reax 2.000, Heindolph*). Se utilizan 60 µl de esta solución junto con 40 µl de tampón EIA para tapizar los pocillos de la placa de poliestireno (*Biogreiner*). Para la curva estándar los pocillos se tapizan con 50 µl de cada uno de los estándares junto con 50 µl de tampón EIA. Las muestras estándar y problema se determinan por duplicado. Para calcular los pocillos de máxima unión al anticuerpo, se tapizan cuatro pocillos de la columna A con 50 µl de la solución de conjugado junto con 50 µl de tampón EIA. Las placas se sellan (*ICN Biomedical Inc.*), incubándose durante un período de 2 horas a temperatura ambiente. A continuación, se separan las fracciones de hormona libre y unida a los anticuerpos adsorbidos en la fase sólida mediante volcado de las placas y lavado posterior con 200 µl de solución de lavado por pocillo. En todos los pocillos de la placa se añaden 100 µl de tetrametilbencidina (*TMB; Neogen; USA*), incubándolo 20 minutos a temperatura ambiente para el desarrollo del color por parte del cromógeno y la adición de 100 µl de solución de frenado. Una vez frenada la reacción del sustrato, se procede a la lectura de la densidad óptica del color desarrollado mediante un lector automático EIA (*Bio-Tek Instruments*) que, mediante filtros de 450 y 600 nm, realiza una lectura bicromática eliminando el color producido por una posible reacción inespecífica de fondo. Las concentraciones hormonales se calculan mediante la utilización de un software desarrollado para la técnica EIA de competición (*ELISA-AID Eurogenetics, Bélgica*). La curva dosis-respuesta se traza enfrentando el porcentaje de unión de la hormona sin marcar al anticuerpo con las diferentes diluciones estándar de la T, A₄ y DHEA. Los límites de detección de la técnica para las concentraciones de T, A₄ y DHEA fueron 30 pg/ml, 25 pg/ml y 40 pg/ml, respectivamente. Los porcentajes de recuperación fueron del 95% y del 98%, a elevadas y bajas concentraciones, respectivamente. Los CV intra-análisis para la A₄ y T quedaron comprendidos entre 5,9-6,5% y 4,5-6,9% a altas y bajas concentraciones, respectivamente. Asimismo, los CV inter-análisis oscilaron entre 8,9-7,5% y 7,5-9,9% para la A₄ y la T, de forma

respectiva. Aunque el anticuerpo policlonal anti-T R 156 muestra reacciones cruzadas con la 5- α -DHT (20%), 5- β -DHT (5,0%), A₄ (11,5%), andostenediol (3,5%), androstenolona (3,21%), epitestosterona (0,10%), con estradiol, P₄ y CORT es inferior al 1%. El anticuerpo policlonal anti-A₄ muestra reacciones cruzadas con la T (3,16%), E₁S (2%), estradiol (2,12%), si bien, es inferior a 1% con la P₄ y el CORT. Asimismo, aunque el anticuerpo policlonal anti-DHEA C1011 muestra reacciones cruzadas con la DHEA-hemisuccinato (16,0%), DHEA-sulfato (12,6%) y A₄ (6,0%), con la T, E₁S, estradiol, P₄ y CORT es inferior al 1%. Las diluciones seriadas de un pool de muestras de suero equino para la T y DHEA son lineales hasta una dilución de 1:40 y la de A₄ hasta una dilución de 1:80.

Los niveles de E₁S (pg/ml) y P₄ (ng/ml) se determinaron mediante EIA. Para la determinación de la concentración de E₁S 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 entre 450 y 600 nm.

3.5.4.-Factor de crecimiento placentario

El PIGF (ng/ml) se determinó mediante una técnica inmunoenzimática tipo sándwich (*Demeditec DEE01*) validada para muestras de suero equino. La técnica utiliza dos anticuerpos altamente específicos y con una elevada afinidad por el PIGF. El PIGF de la muestra se une con el primer anticuerpo inmovilizado en los pocillos de la microplaca. Posteriormente, se añade el segundo anticuerpo anti-PIGF biotinilado y el conjugado enzimático estreptavidina-peroxidasa que se une al PIGF unido al primer anticuerpo en los pocillos. Finalmente, se añade el sustrato-cromógeno TMB (*Neogen; USA*), desarrollándose un color que será de intensidad proporcional a la concentración de PIGF de la muestra. El límite de detección de la técnica es de 0,02 ng/ml y el % de recuperación de concentraciones conocidas de PIGF añadidas a un pool de muestras equinas fue de 105,1%. Los CV quedaron comprendidos entre 5,23% y 5,87% y entre 6,75% y 6,81%, a bajas y altas concentraciones, respectivamente. La técnica es lineal en todas las diluciones analizadas en el ensayo (1:25; 1:5,1:10; 1:20; 1:40; 1:80 y 1:160).

3.5.5.-Hormonas adrenales

Los niveles de CORT (ng/ml) se han cuantificado en suero, a partir de un volumen de 100 μ l, mediante EIA, en el que se han empleado anticuerpos policlonales C97, obtenidos y caracterizados en el Departamento de Fisiología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid. Este procedimiento laboratorial muestra una elevada especificidad para el CORT. 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 introducidas en la presente investigación se encontraba bajo terapia con antiinflamatorios esteroideos, debido fundamentalmente a su estado fisiológico. La sensibilidad de la técnica fue de 3 pg/100 μ l. 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 cantidades conocidas de la muestra fue del 95%.

3.6.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el estudio estadístico, se utilizó el programa informático *Statistica v.9.0* para *Windows*. Los resultados se clasificaron en función del mes de gestación. Se calcularon los estadísticos descriptivos, como la media, los valores máximo y mínimo y la desviación estándar (DS). Seguidamente, se comprobó la normalidad y la homocedasticidad en las variables analizadas (ADR, NORADR, 5-HT, DA, ACTH, GH, IGF-1, A₄, T, DHEA, E₁S, P₄, PIGF y CORT) mediante los tests de *Shapiro-Wilk's* y *Levene*, respectivamente. Las diferencias entre los meses de gestación fueron detectadas mediante un ANOVA de una vía. En aquellos casos en los que el análisis mostró diferencias estadísticamente significativas, se aplicó seguidamente un test de *Tukey HSD*. Finalmente, se llevó a cabo un análisis de correlación lineal (*Correlación de Pearson*) para valorar la relación existente entre los parámetros previamente mencionados. Se consideró un nivel de significación de $p < 0,05$.

RESULTADOS

4.-RESULTADOS

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

4.1.-Establecimiento de valores de referencia de los neurotransmisores (ADR, NORADR, 5-HT y DA), hormonas hipofisarias (ACTH y GH), placentarias (A₄, DHEA, T, E₁S) y adrenales (CORT), así como los factores IGF-1 y PIGF en la yegua PRE durante la gestación. En este primer apartado se han considerado de forma conjunta las 363 muestras sanguíneas obtenidas, independientemente del periodo gestacional y del patrón temporal de las venipunciones.

4.2.-Influencia del mes de gestación sobre los neurotransmisores (ADR, NORADR, 5-HT y DA), hormonas hipofisarias (ACTH y GH), placentarias (A₄, DHEA, T, E₁S y P₄) y adrenales (CORT), así como sobre los factores IGF-1 y PIGF en la yegua PRE.

4.3.-Correlaciones entre los parámetros anteriormente descritos durante la gestación en la yegua reproductora PRE.

4.1.-PARÁMETROS DE REFERENCIA DE LAS CONCENTRACIONES DE NEUROTRANSMISORES, HORMONAS HIPOFISARIAS, PLACENTARIAS, ADRENALES Y FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA YEGUA GESTANTE PRE

En la tabla 2 se recopilan los estadísticos básicos de los niveles plasmáticos de neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales y factores de crecimiento para el conjunto de la población equina analizada.

	Unidad	N	Media	Mínimo	Máximo	DS
ADR	ng/ml	363	15,56	5,58	461,67	23,81
NORADR	ng/ml	363	30,58	1,89	110,68	16,00
5-HT	ng/ml	363	461,99	2,64	1610,62	290,78
DA	pg/ml	363	58,96	10,57	158,53	26,03
ACTH	pg/ml	363	47,99	10,00	202,57	39,38
GH	ng/ml	363	5,67	0,54	46,44	7,18
IGF-1	ng/ml	363	270,71	20,80	880,50	138,54
A₄	ng/ml	363	2,06	0,26	11,58	1,57
DHEA	ng/ml	363	9,58	0,91	33,39	6,34
T	ng/ml	363	0,84	0,02	8,64	1,01
P₄	ng/ml	363	12,91	0,03	199,66	22,19
E₁S	pg/ml	363	61,20	0,01	745,12	93,06
PIGF	ng/ml	363	57,64	31,70	223,60	18,05
CORT	ng/ml	363	58,72	4,21	705,32	56,07

TABLA 2.-Estadísticos descriptivos de los diversos neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE (*ADR: adrenalina; NORADR: noradrenalina; 5-HT: serotonina; DA: dopamina; ACTH: hormona adrenocorticotropa; GH: hormona del crecimiento; IGF-1: factor de crecimiento similar a insulina; A₄: androstenodiona; DHEA: dehidroepiandrosterona; T: testosterona; E₁S: sulfato de estrona; P₄: progesterona; PIGF: factor de crecimiento placentario; CORT: cortisol*).

4.2.-EVOLUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE NEUROTRANSMISORES, HORMONAS HIPOFISARIAS, PLACENTARIAS, ADRENALES Y FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA YEGUA PRE DURANTE LA GESTACIÓN

A continuación, en las tablas 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13 se muestran los estadísticos básicos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales y factores de crecimiento correspondientes a cada mes de gestación.

<i>Primer mes</i>	Unidad	N	Media	Mínimo	Máximo	DS
ADR	ng/ml	363	19,56	6,53	32,75	4,89
NORADR	ng/ml	363	26,71	10,18	55,75	8,50
5-HT	ng/ml	363	418,58	160,83	796,38	153,50
DA	pg/ml	363	41,31	12,10	92,76	18,71
ACTH	pg/ml	363	28,20	10,00	60,00	11,85
GH	ng/ml	363	3,68	1,14	34,94	5,78
IGF-1	ng/ml	363	221,29	20,80	726,33	114,74
A ₄	ng/ml	363	2,16	0,26	7,36	1,33
DHEA	ng/ml	363	7,47	1,03	26,54	5,86
T	ng/ml	363	0,49	0,02	3,01	0,50
E ₁ S	pg/ml	363	10,36	0,01	50,80	17,32
P ₄	ng/ml	363	26,52	2,40	67,48	25,96
PIGF	ng/ml	363	54,41	37,30	79,60	8,61
CORT	ng/ml	363	33,90	13,04	44,83	10,48

TABLA 3.-Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el primer mes de gestación.

<i>Segundo mes</i>	Unidad	N	Media	Mínimo	Máximo	DS
ADR	ng/ml	363	40,03	7,71	461,67	76,40
NORADR	ng/ml	363	34,12	9,36	62,77	10,93
5-HT	ng/ml	363	359,02	149,11	676,41	127,73
DA	pg/ml	363	45,38	12,81	158,54	27,85
ACTH	pg/ml	363	50,12	10,29	156,34	39,82
GH	ng/ml	363	2,07	0,74	6,04	1,20
IGF-1	ng/ml	363	329,78	36,51	731,99	150,00
A ₄	ng/ml	363	2,83	0,29	8,45	1,86
DHEA	ng/ml	363	10,98	0,91	32,61	7,71
T	ng/ml	363	0,77	0,02	6,39	1,20
E ₁ S	pg/ml	363	12,11	0,03	74,46	18,47
P ₄	ng/ml	363	12,58	0,40	65,75	17,32
PIGF	ng/ml	363	62,06	42,90	152,80	19,38
CORT	ng/ml	363	43,67	10,97	91,26	22,04

TABLA 4.-Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el segundo mes de gestación.

<i>Tercer mes</i>	<i>Unidad</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>DS</i>
ADR	ng/ml	363	23,01	7,99	33,05	5,98
NORADR	ng/ml	363	36,29	12,25	69,47	15,01
5-HT	ng/ml	363	286,76	39,14	680,99	128,96
DA	pg/ml	363	70,01	21,02	157,56	28,92
ACTH	pg/ml	363	53,01	11,20	194,40	54,64
GH	ng/ml	363	2,37	1,11	9,08	1,89
IGF-1	ng/ml	363	317,41	79,13	875,82	167,77
A₄	ng/ml	363	3,38	0,77	11,59	2,82
DHEA	ng/ml	363	10,29	0,94	29,09	7,07
T	ng/ml	363	1,26	0,19	7,53	1,45
E₁S	pg/ml	363	38,25	0,22	250,10	53,99
P₄	ng/ml	363	32,28	4,68	199,66	39,23
PIGF	ng/ml	363	76,64	42,90	223,60	37,81
CORT	ng/ml	363	55,40	10,30	163,94	37,94

TABLA 5.-Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el tercer mes de gestación.

<i>Cuarto mes</i>	<i>Unidad</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>DS</i>
ADR	ng/ml	363	12,00	6,27	32,55	4,80
NORADR	ng/ml	363	24,41	9,66	73,88	11,71
5-HT	ng/ml	363	248,07	2,65	623,15	126,87
DA	pg/ml	363	54,10	11,08	127,76	25,10
ACTH	pg/ml	363	38,12	11,43	160,69	36,30
GH	ng/ml	363	4,28	1,27	16,07	3,86
IGF-1	ng/ml	363	204,70	103,43	547,71	81,48
A₄	ng/ml	363	1,68	0,62	3,16	0,65
DHEA	ng/ml	363	10,81	1,77	31,88	6,39
T	ng/ml	363	0,92	0,09	5,31	0,94
E₁S	pg/ml	363	38,25	0,22	250,10	53,99
P₄	ng/ml	363	22,86	3,52	139,56	26,42
PIGF	ng/ml	363	60,33	37,40	109,00	14,63
CORT	ng/ml	363	55,26	16,37	121,41	28,02

TABLA 6.-Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el cuarto mes de gestación.

<i>Quinto mes</i>	Unidad	N	Media	Mínimo	Máximo	DS
ADR	ng/ml	363	11,84	7,19	21,50	3,40
NORADR	ng/ml	363	18,88	11,01	30,84	5,01
5-HT	ng/ml	363	617,60	59,50	1610,62	333,34
DA	pg/ml	363	57,72	11,71	144,95	25,41
ACTH	pg/ml	363	54,43	10,46	156,23	44,06
GH	ng/ml	363	9,43	0,90	31,58	10,39
IGF-1	ng/ml	363	405,83	136,58	866,06	219,93
A₄	ng/ml	363	2,39	0,91	6,21	1,25
DHEA	ng/ml	363	15,05	3,66	32,66	7,64
T	ng/ml	363	0,91	0,09	5,44	0,94
E₁S	pg/ml	363	70,06	0,01	210,39	60,09
P₄	ng/ml	363	14,48	2,01	54,37	13,05
PIGF	ng/ml	363	65,74	45,90	109,60	14,61
CORT	ng/ml	363	122,53	23,09	705,32	126,55

TABLA 7.-Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el quinto mes de gestación.

<i>Sexto mes</i>	Unidad	N	Media	Mínimo	Máximo	DS
ADR	ng/ml	363	12,90	8,60	25,07	3,23
NORADR	ng/ml	363	25,39	10,91	59,33	12,33
5-HT	ng/ml	363	476,57	190,43	773,92	144,80
DA	pg/ml	363	63,82	14,34	153,68	27,20
ACTH	pg/ml	363	59,49	11,03	164,28	48,35
GH	ng/ml	363	3,48	1,05	22,16	4,23
IGF-1	ng/ml	363	252,84	102,43	479,85	89,30
A₄	ng/ml	363	3,06	0,86	6,52	1,48
DHEA	ng/ml	363	13,25	1,48	23,84	5,87
T	ng/ml	363	0,93	0,06	4,60	0,79
E₁S	pg/ml	363	99,80	0,50	745,12	138,74
P₄	ng/ml	363	6,35	0,03	30,91	7,42
PIGF	ng/ml	363	52,78	36,70	72,40	7,44
CORT	ng/ml	363	94,94	15,60	276,19	58,74

TABLA 8.-Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el sexto mes de gestación.

<i>Séptimo mes</i>	Unidad	N	Media	Mínimo	Máximo	DS
ADR	ng/ml	363	10,15	6,75	15,04	1,97
NORADR	ng/ml	363	23,81	1,89	54,33	11,20
5-HT	ng/ml	363	787,21	235,08	1573,69	343,97
DA	pg/ml	363	69,21	10,92	134,48	30,30
ACTH	pg/ml	363	56,89	10,86	202,57	41,83
GH	ng/ml	363	10,69	0,71	38,62	10,60
IGF-1	ng/ml	363	286,89	124,86	880,50	139,21
A₄	ng/ml	363	2,11	0,56	6,02	1,16
DHEA	ng/ml	363	11,60	1,44	24,35	5,03
T	ng/ml	363	0,92	0,19	7,54	1,23
E₁S	pg/ml	363	138,67	0,23	745,12	170,31
P₄	ng/ml	363	1,82	0,26	4,89	1,02
PIGF	ng/ml	363	53,48	37,70	75,50	9,30
CORT	ng/ml	363	54,56	9,75	154,21	33,86

TABLA 9.-Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el séptimo mes de gestación.

<i>Octavo mes</i>	Unidad	N	Media	Mínimo	Máximo	DS
ADR	ng/ml	363	9,84	5,70	12,35	1,37
NORADR	ng/ml	363	40,10	9,02	110,69	21,22
5-HT	ng/ml	363	686,59	95,71	1557,87	280,61
DA	pg/ml	363	73,24	16,29	111,29	21,65
ACTH	pg/ml	363	54,20	10,34	190,11	42,77
GH	ng/ml	363	10,38	0,74	46,44	10,96
IGF-1	ng/ml	363	247,03	111,66	737,23	116,08
A₄	ng/ml	363	1,46	0,52	4,51	0,67
DHEA	ng/ml	363	7,56	3,07	17,34	3,25
T	ng/ml	363	0,63	0,08	4,24	0,73
E₁S	pg/ml	363	73,44	1,79	262,69	69,87
P₄	ng/ml	363	8,52	0,05	34,65	10,86
PIGF	ng/ml	363	53,54	40,90	81,80	7,86
CORT	ng/ml	363	36,37	14,34	101,00	15,99

TABLA 10.-Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el octavo mes de gestación.

<i>Noveno mes</i>	<i>Unidad</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>DS</i>
ADR	ng/ml	363	10,81	5,78	14,04	1,80
NORADR	ng/ml	363	34,34	7,94	86,49	16,40
5-HT	ng/ml	363	586,41	73,44	1491,84	289,12
DA	pg/ml	363	68,28	19,22	123,91	22,17
ACTH	pg/ml	363	54,21	12,57	199,94	41,85
GH	ng/ml	363	9,03	0,71	25,57	6,93
IGF-1	ng/ml	363	300,25	125,17	633,08	109,198
A₄	ng/ml	363	1,48	0,49	3,99	0,76
DHEA	ng/ml	363	6,92	3,10	16,96	2,78
T	ng/ml	363	0,40	0,17	2,13	0,33
E₁S	pg/ml	363	47,05	5,90	273,94	53,47
P₄	ng/ml	363	13,22	0,14	164,56	33,22
PIGF	ng/ml	363	48,17	34,40	69,10	7,04
CORT	ng/ml	363	36,07	4,21	89,22	22,23

TABLA 11.-Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el noveno mes de gestación.

<i>Décimo mes</i>	<i>Unidad</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>DS</i>
ADR	ng/ml	363	9,89	5,58	15,32	2,07
NORADR	ng/ml	363	35,94	19,01	53,67	7,37
5-HT	ng/ml	363	636,37	241,09	1291,03	184,87
DA	pg/ml	363	67,24	24,04	109,25	18,40
ACTH	pg/ml	363	59,14	12,86	177,26	34,71
GH	ng/ml	363	5,92	0,54	29,96	5,85
IGF-1	ng/ml	363	235,93	116,86	461,87	82,78
A₄	ng/ml	363	1,11	0,55	2,55	0,38
DHEA	ng/ml	363	6,33	2,52	16,02	2,78
T	ng/ml	363	0,48	0,04	2,28	0,40
E₁S	pg/ml	363	26,03	2,80	52,55	14,93
P₄	ng/ml	363	8,03	0,78	29,84	10,25
PIGF	ng/ml	363	46,76	31,70	77,50	8,51
CORT	ng/ml	363	27,91	7,95	60,96	14,82

TABLA 12.-Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el décimo mes de gestación.

<i>Décimo primer mes</i>	Unidad	N	Media	Mínimo	Máximo	DS
ADR	ng/ml	363	12,99	7,85	15,65	1,44
NORADR	ng/ml	363	23,88	16,71	29,88	2,34
5-HT	ng/ml	363	161,92	63,35	221,45	27,06
DA	pg/ml	363	56,74	26,31	84,38	8,29
ACTH	pg/ml	363	41,25	15,57	63,14	8,59
GH	ng/ml	363	3,308	0,96	6,41	0,90
IGF-1	ng/ml	363	187,40	111,54	384,84	44,82
A₄	ng/ml	363	1,12	0,56	3,88	0,53
DHEA	ng/ml	363	6,68	2,69	20,03	2,75
T	ng/ml	363	1,71	0,15	8,64	1,33
E₁S	pg/ml	363	20,99	5,33	83,34	20,53
P₄	ng/ml	363	12,13	1,44	42,21	13,12
PIGF	ng/ml	363	58,51	44,00	107,50	9,49
CORT	ng/ml	363	25,79	7,48	66,69	14,46

TABLA 13.-Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el décimo primer mes de gestación.

El análisis de variación entre los distintos meses de gestación reveló modificaciones estadísticamente significativas en las concentraciones de ADR y NORADR (Figura 1), 5-HT (Figura 2), DA (Figura 3), ACTH y CORT (Figura 4), GH (Figura 5), IGF-1 (Figura 6), A₄ (Figura 7), DHEA (Figura 8), T (Figura 9), E₁S (Figura 10), P₄ (Figura 11) y PIGF (Figura 12).

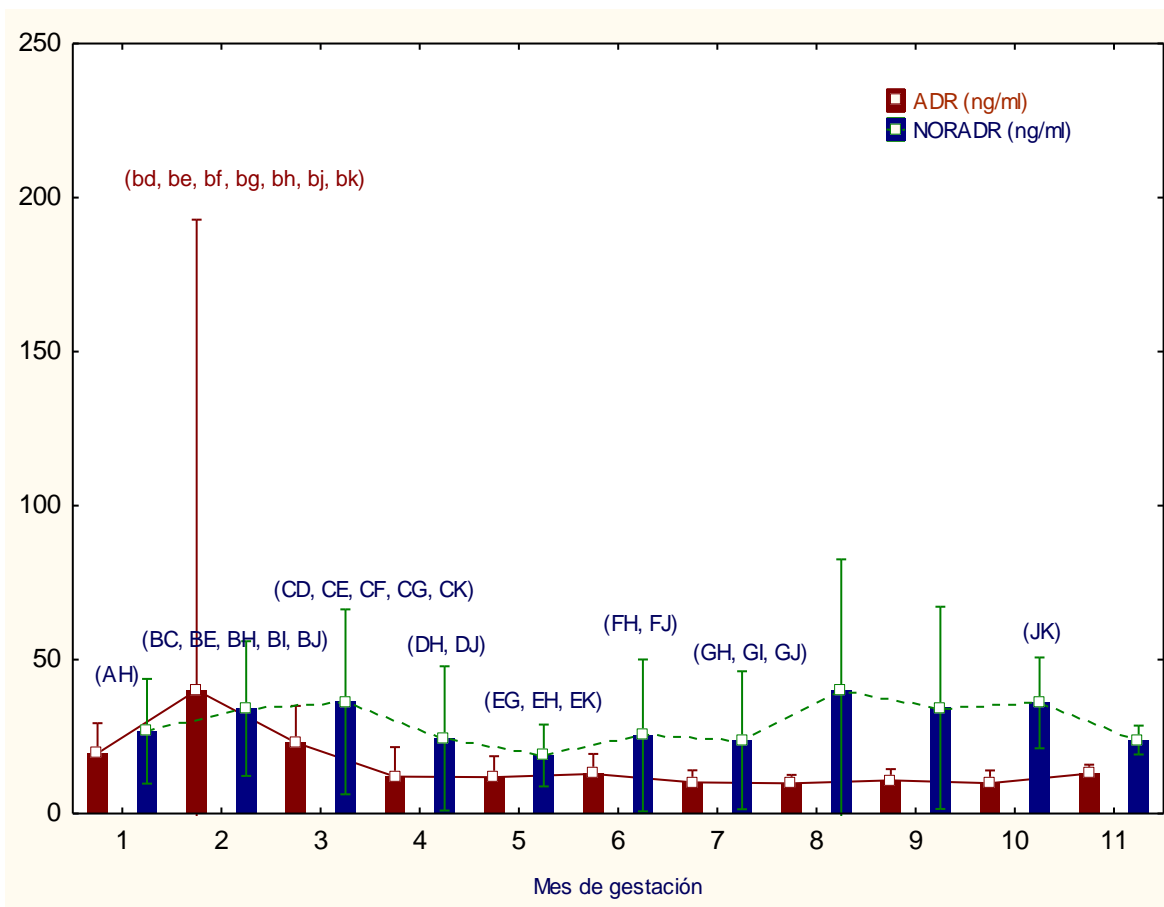


FIGURA 1.-Valores medios \pm DS de adrenalina y noradrenalina a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE

NORADR (AH: diferencias entre el primer y octavo mes; BC: diferencias entre el segundo y tercer mes; BE: diferencias entre el segundo y el quinto mes; BH: diferencias entre el segundo y octavo mes; BI: diferencias entre el segundo y noveno mes; BJ: diferencias entre el segundo y décimo mes; CD: diferencias entre el tercer y cuarto mes; CE: diferencias entre el tercer y quinto mes; CF: diferencias entre el tercer y sexto mes; CG: diferencias entre el tercer y séptimo mes; CK: diferencias entre el tercer y décimo primer mes; DH: diferencias entre el cuarto y noveno mes; DJ: diferencias entre el cuarto y noveno mes; EG: diferencias entre el quinto y séptimo mes; EH: diferencias entre el quinto y octavo mes; EK: diferencias entre el quinto y décimo primer mes; FH: diferencias entre el sexto y octavo mes; FJ: diferencias entre el sexto y décimo mes; GH: diferencias entre el séptimo y octavo mes; GI: diferencias entre el séptimo y noveno mes; GJ: diferencias entre el séptimo y décimo mes; JK: diferencias entre el décimo y décimo primer mes) ($p < 0,05$).

ADR (bd: diferencias entre el segundo y cuarto mes; be: diferencias entre el segundo y quinto mes; bf: diferencias entre el segundo y sexto mes; bg: diferencias entre el segundo y séptimo mes; bh: diferencias entre el segundo y octavo mes; bj: diferencias entre el segundo y décimo mes; bk: diferencias entre el segundo y décimo primer mes) ($p < 0,05$).

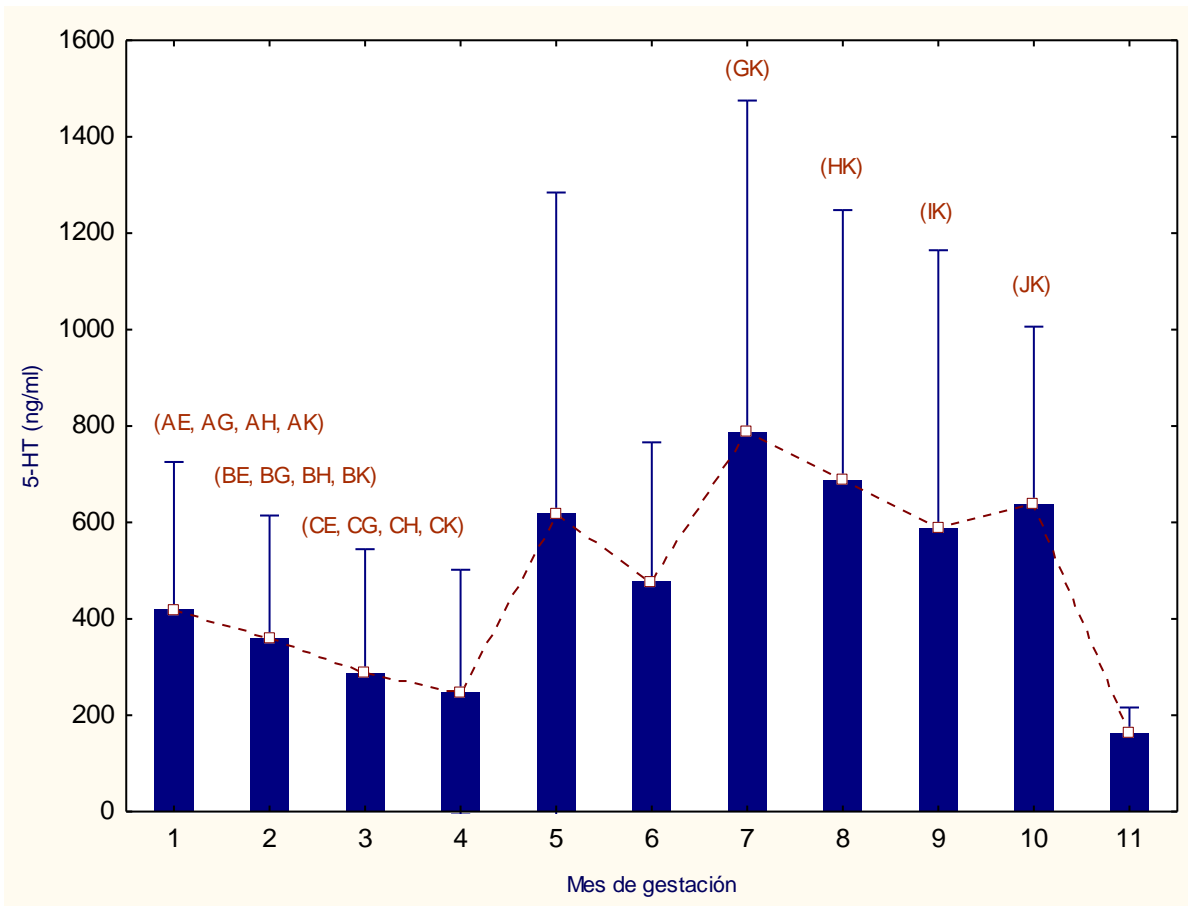


FIGURA 2.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de serotonina a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE (AE: diferencias entre el primer y quinto mes; AG: diferencias entre el primer y séptimo mes; AH: diferencias entre el primer y octavo mes; AK: diferencias entre el primer y décimo primer mes; BE: diferencias entre el segundo y quinto mes; BG: diferencias entre el segundo y séptimo mes; BH: diferencias entre el segundo y octavo mes; BK: diferencias entre el segundo y décimo primer mes; CE: diferencias entre el tercer y quinto mes; CG: diferencias entre el tercer y séptimo mes; CH: diferencias entre el tercer y octavo mes; CK: diferencias entre el tercer y décimo primer mes; GK: diferencias entre el séptimo y décimo primer mes; HK: diferencias entre el octavo y décimo primer mes; IK: diferencias entre el noveno y décimo primer mes; JK: diferencias entre el décimo y décimo primer mes) ($p < 0,05$).

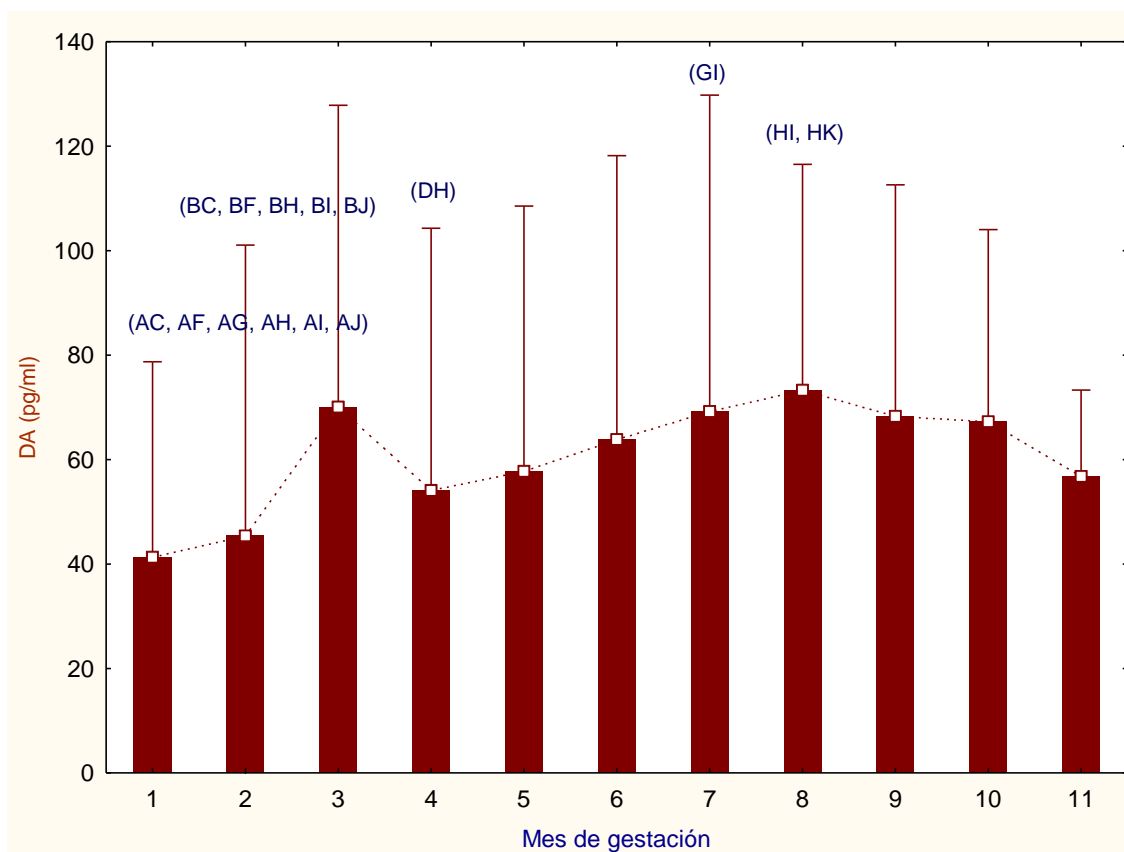


FIGURA 3.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de dopamina a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE (AC: diferencias entre el primer y tercer mes; AF: diferencias entre el primer y sexto mes; AG: diferencias entre el primer y séptimo mes; AH: diferencias entre el primer y octavo mes; AI: diferencias entre el primer y noveno mes; AJ: diferencias entre el primer y el décimo mes; BC: diferencias entre el segundo y tercer mes; BF: diferencias entre el segundo y sexto mes; BH: diferencias entre el segundo y octavo mes; BI: diferencias entre el segundo y noveno mes; BJ: diferencias entre el segundo y décimo mes; DH: diferencias entre el cuarto y octavo mes; GI: diferencias entre el séptimo y noveno mes; HI: diferencias entre el octavo y noveno mes; HK: diferencias entre el octavo y décimo primer mes) ($p < 0,05$).

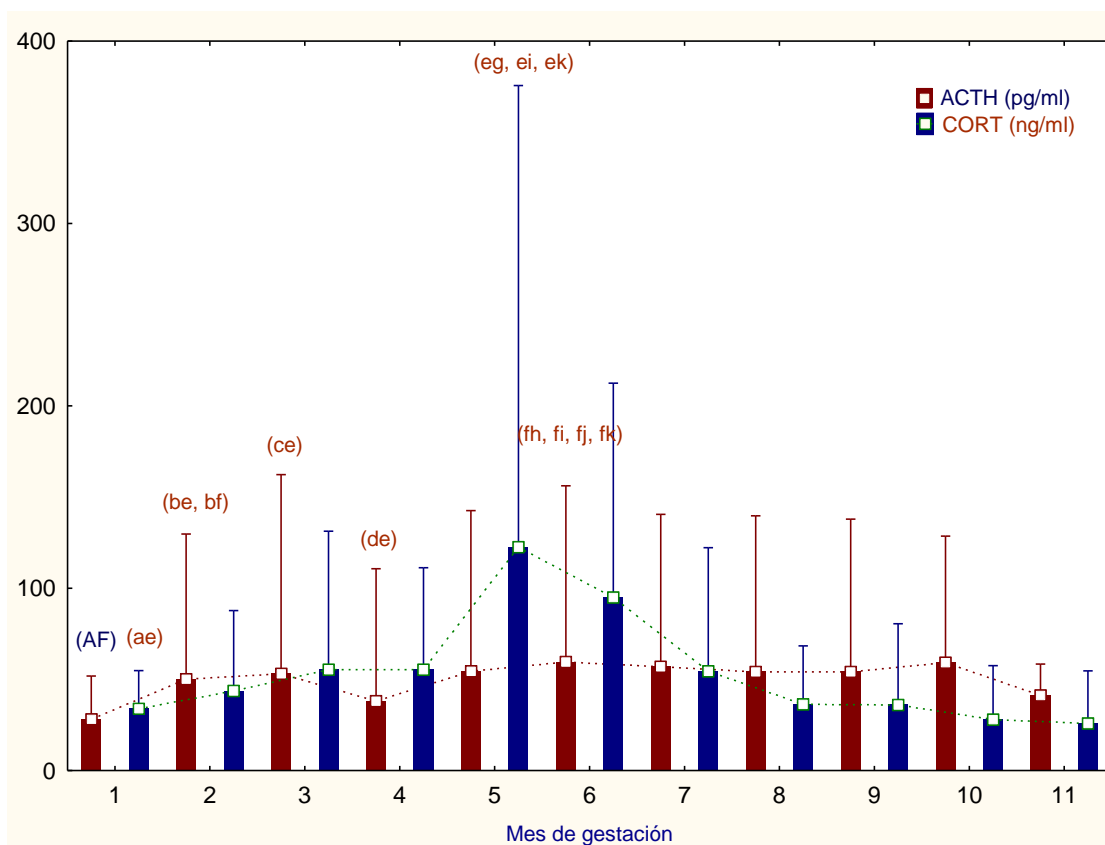


FIGURA 4.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de hormona adrenocorticotropa y cortisol a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE.

ACTH (AF: diferencias entre el primer y sexto mes) ($p < 0,05$).

CORT (ae: diferencias entre el primer y quinto mes; be: diferencias entre el segundo y quinto mes; bf: diferencias entre el segundo y sexto mes; ce: diferencias entre el tercer y quinto mes; de: diferencias entre el cuarto y quinto mes; eg: diferencias entre el quinto y el séptimo mes; ei: diferencias entre el quinto y noveno mes; ek: diferencias entre el quinto y décimo primer mes; fh: diferencias entre el sexto y octavo mes; fi: diferencias entre el sexto y noveno mes; fj: diferencias entre el sexto y décimo mes; fk: diferencias entre el sexto y décimo primer mes) ($p < 0,05$).

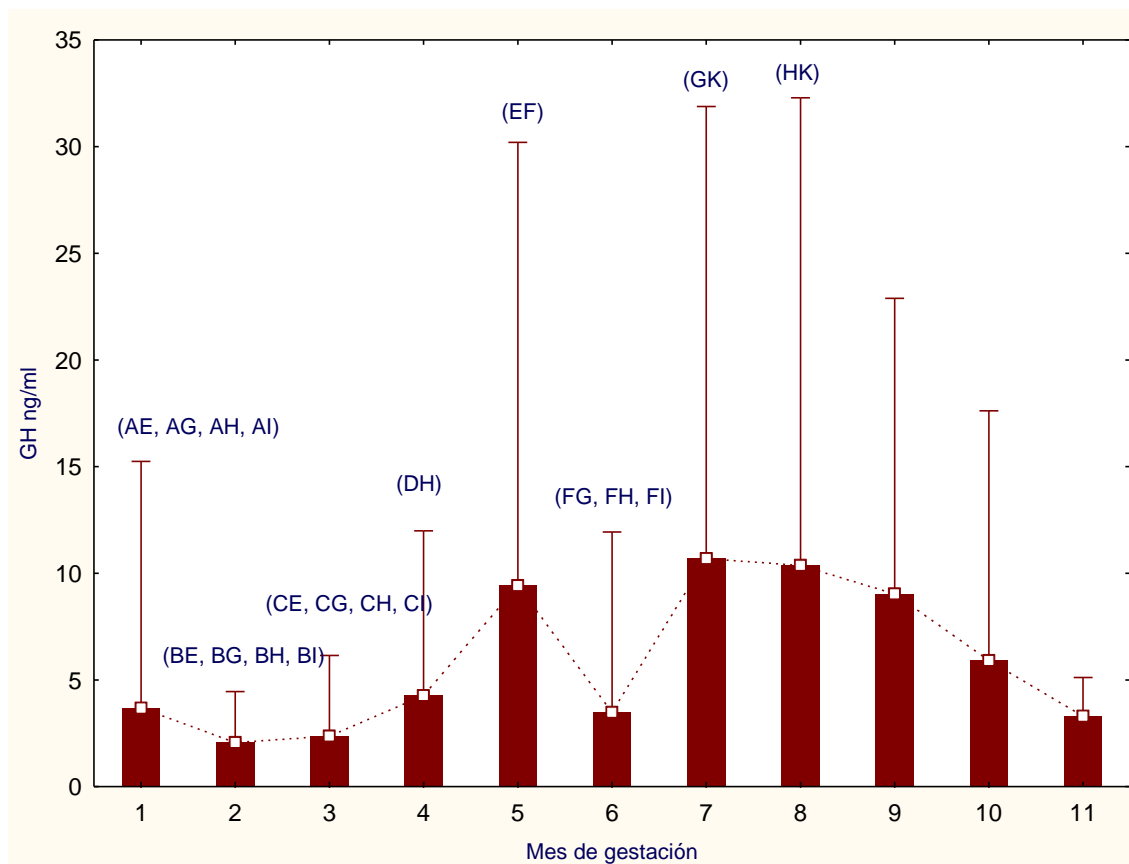


FIGURA 5.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de hormona del crecimiento a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE (AE: diferencias entre el primer y quinto mes; AG: diferencias entre el primer y séptimo mes; AH: diferencias entre el primer y octavo mes, AI: diferencias entre el primer y noveno mes; BE: diferencias entre el segundo y quinto mes; BG: diferencias entre el segundo y séptimo mes; BH: diferencias entre el segundo y octavo mes; BI: diferencias entre el segundo y noveno mes; CE: diferencias entre el tercer y quinto mes; CG: diferencias entre el tercer y séptimo mes; CH: diferencias entre el tercer y octavo mes; CI: diferencias entre el tercer y noveno mes; DH: diferencias entre el cuarto y octavo mes; EF: diferencias entre el quinto y sexto mes; FG: diferencias entre el sexto y séptimo mes; FH: diferencias entre el sexto y octavo mes; FI: diferencias entre el sexto y noveno mes; GK; diferencias entre el séptimo y décimo primer mes; HK: diferencias entre el octavo y décimo primer mes) ($p < 0,05$).

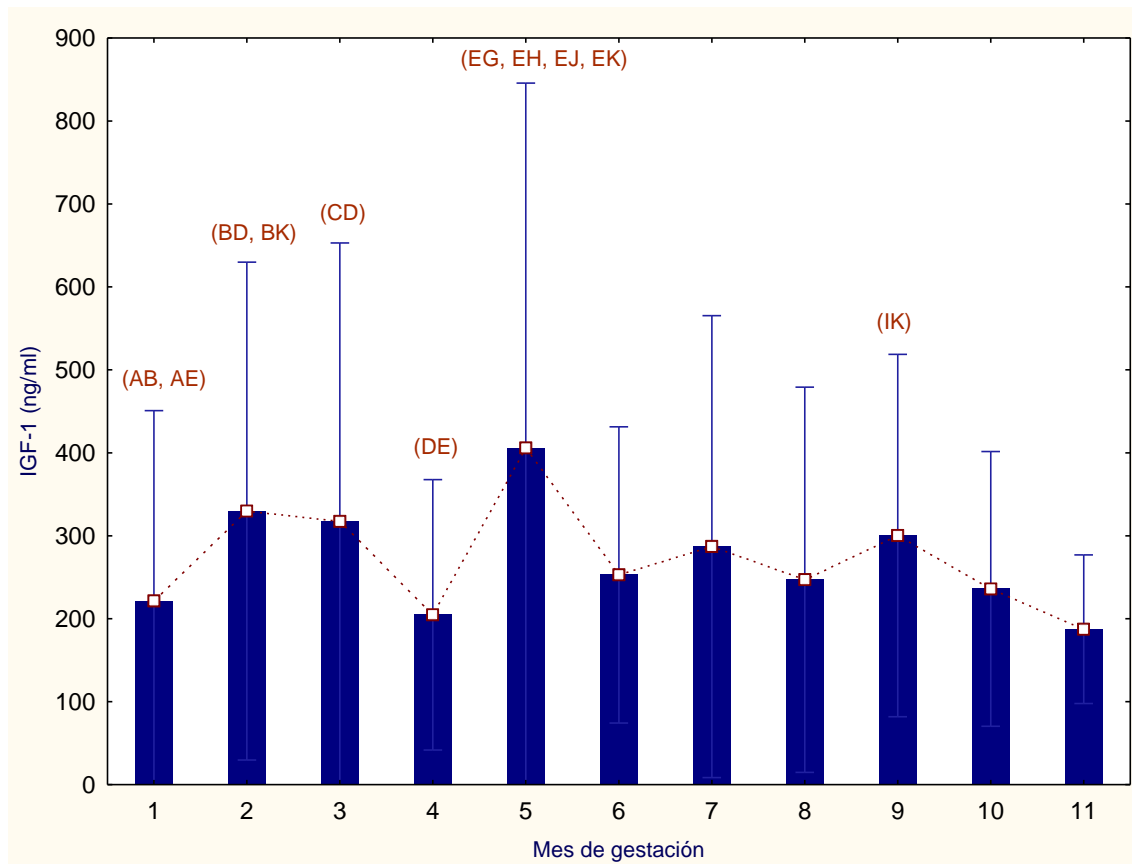


FIGURA 6.-Valores medios \pm DS de las concentraciones del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE (AB: diferencias entre el primer y segundo mes; AE: diferencias entre el primer y quinto mes; BD: diferencias entre el segundo y cuarto mes; BK: diferencias entre el segundo y décimo primer mes; CD: diferencias entre el tercer y cuarto mes; DE: diferencias entre el cuarto y quinto mes; EG: diferencias entre el quinto y séptimo mes; EH: diferencias entre el quinto y octavo mes; EJ: diferencias entre el quinto y décimo mes; EK: diferencias entre el quinto y décimo primer mes; IK: diferencias entre el noveno y décimo primer mes) ($p < 0,05$).

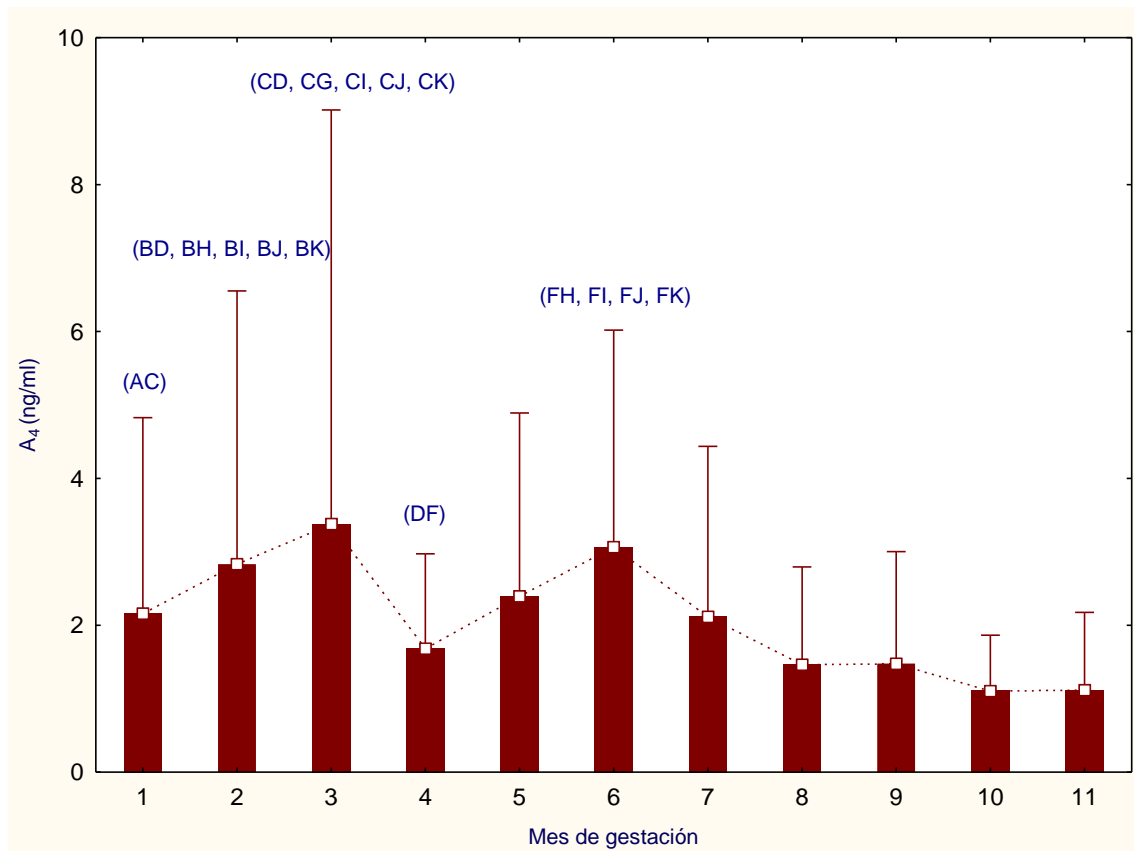


FIGURA 7.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de androstenediona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE (AC: diferencias entre el primer y tercer mes; BD: diferencias entre el segundo y cuarto mes; BH: diferencias entre el segundo y octavo mes; BI: diferencias entre el segundo y noveno mes; BJ: diferencias entre el segundo y décimo mes; BK: diferencias entre el segundo y décimo primer mes; CD: diferencias entre el tercer y cuarto mes; CG: diferencias entre el tercer y séptimo mes; CI: diferencias entre el tercer y noveno mes; CJ: diferencias entre el tercer y décimo mes; CK: diferencias entre el tercer y décimo primer mes; DF: diferencias entre el cuarto y sexto mes; FH: diferencias entre el sexto y octavo mes; FI: diferencias entre el sexto y noveno mes; FJ: diferencias entre el sexto y décimo mes; FK: diferencias entre el sexto y décimo primer mes) ($p < 0,05$).

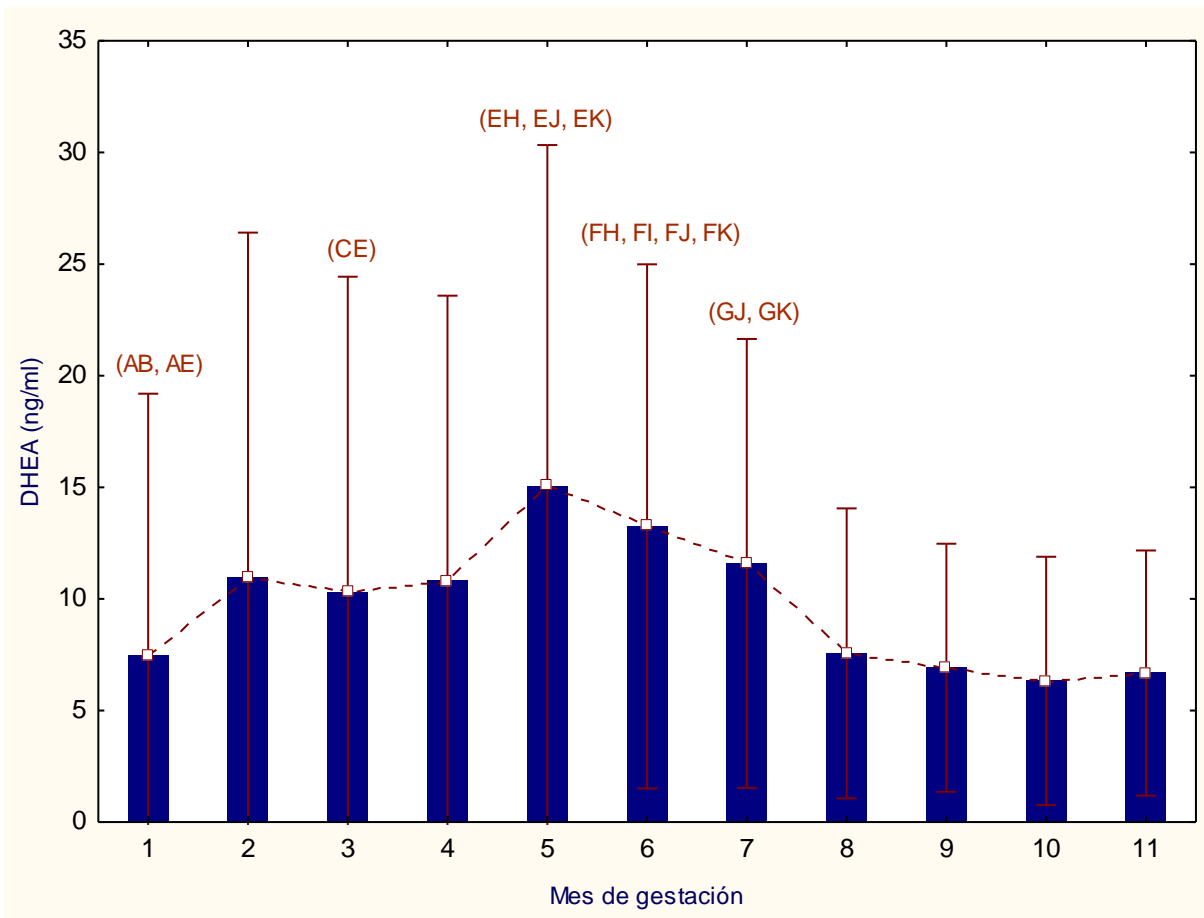


FIGURA 8.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de dehidroepiandrosterona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE (AB: diferencias entre el primer y segundo mes; AE: diferencias entre el primer y quinto mes; CE: diferencias entre el tercer y quinto mes; EH: diferencias entre el quinto y octavo mes; EJ: diferencias entre el quinto y décimo mes; EK: diferencias entre el quinto y décimo primer mes; FH: diferencias entre el sexto y octavo mes; FI: diferencias entre el sexto y noveno mes; FJ: diferencias entre el sexto y décimo mes; FK: diferencias entre el sexto y décimo primer mes; GJ: diferencias entre el séptimo y décimo mes; GK: diferencias entre el séptimo y décimo primer mes) ($p < 0,05$).

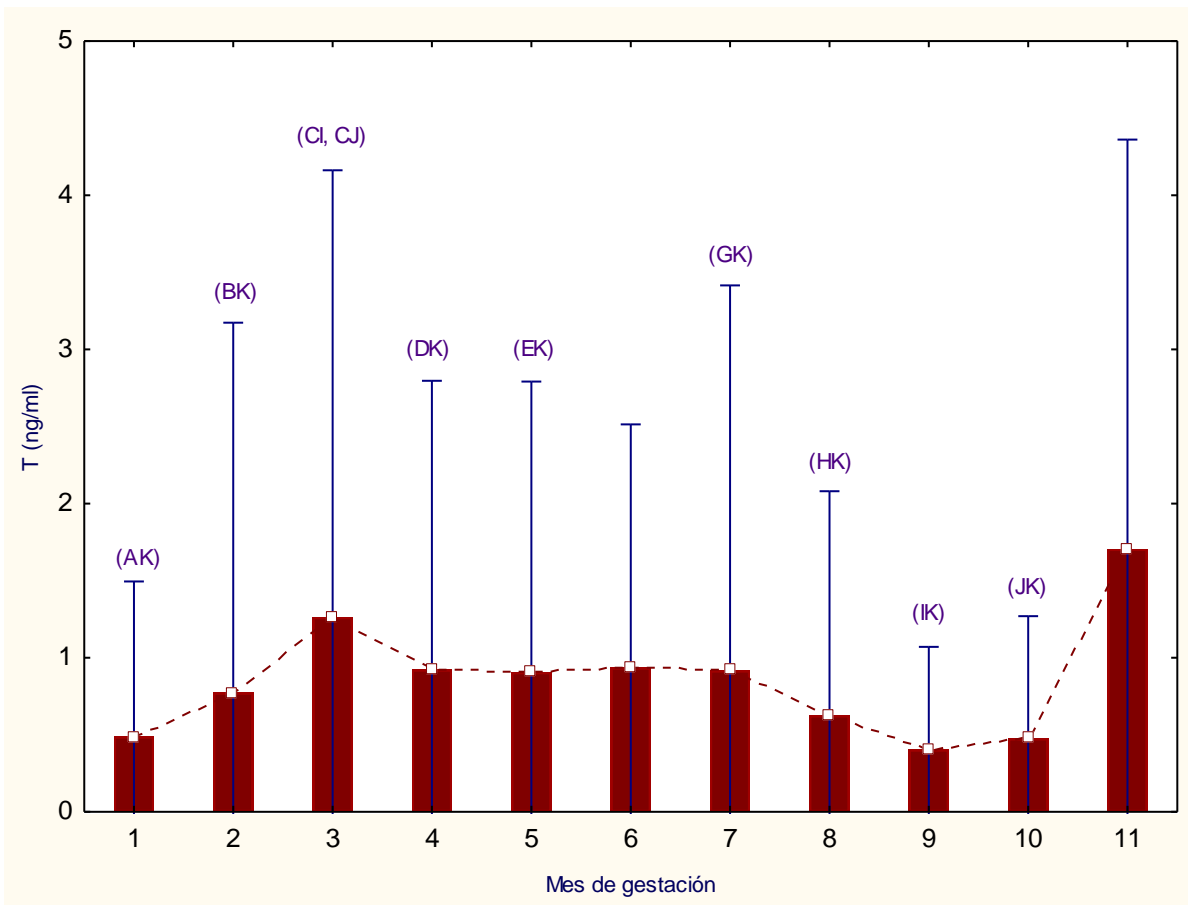


FIGURA 9.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de testosterona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE (AK: diferencias entre el primer y décimo primer mes; BK: diferencias entre el segundo y décimo primer mes; CI: diferencias entre el tercer y noveno mes; CJ: diferencias entre el tercer y décimo mes; DK: diferencias entre el cuarto y décimo primer mes; EK: diferencias entre el quinto y décimo primer mes; GK: diferencias entre el séptimo y décimo primer mes; HK: diferencias entre el octavo y décimo primer mes; IK: diferencias entre el noveno y décimo primer mes; JK: diferencias entre el décimo y décimo primer mes) ($p < 0,05$).

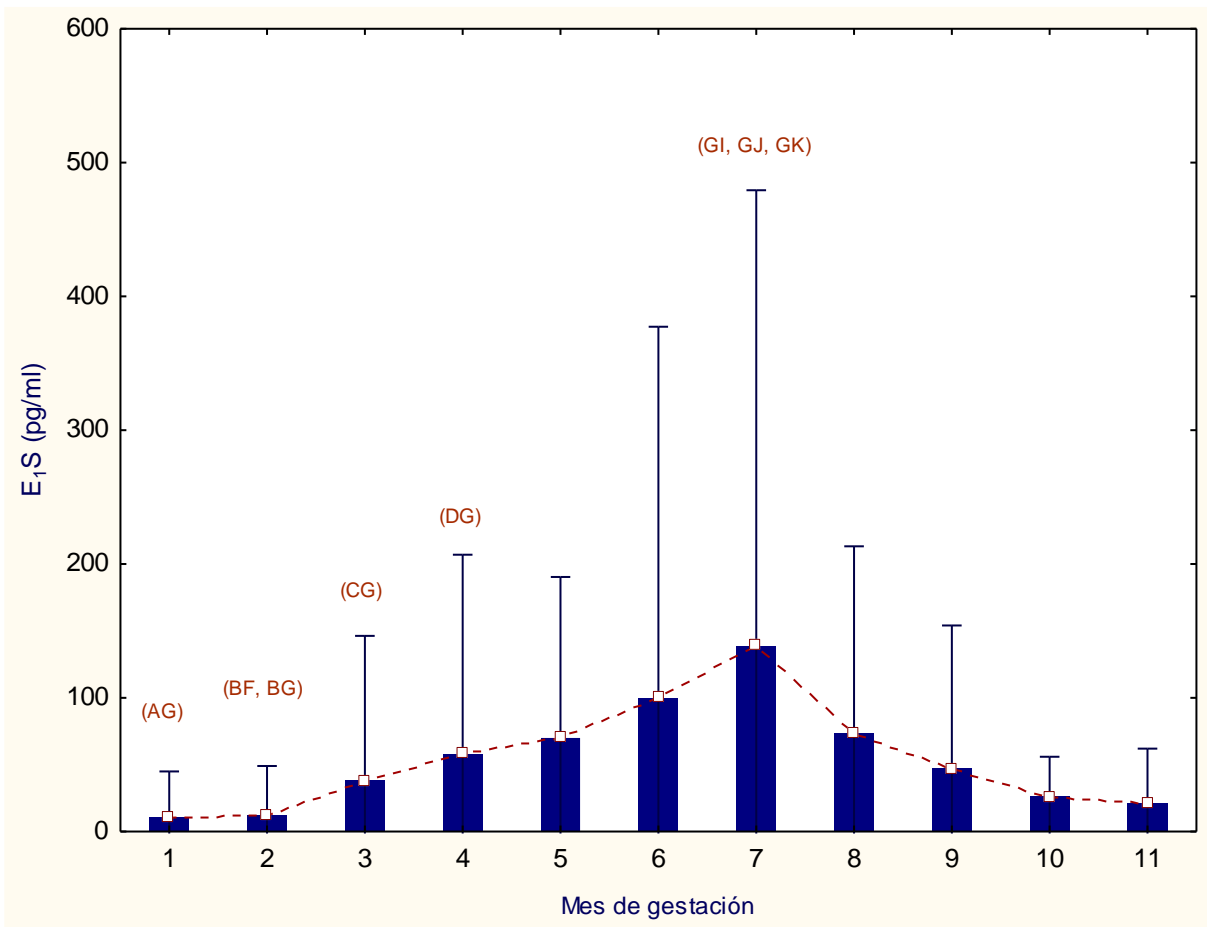


FIGURA 10.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de sulfato de estrona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE (AG: diferencias entre el primer y séptimo mes; BF: diferencias entre el segundo y sexto mes; BG: diferencias entre el segundo y séptimo mes; CG: diferencias entre el tercer y séptimo mes; DG: diferencias entre el cuarto y séptimo mes; GI: diferencias entre el séptimo y noveno mes; GJ: diferencias entre el día de la ovulación y el séptimo mes; GK: diferencias entre el séptimo y décimo primer mes) ($p < 0,05$).

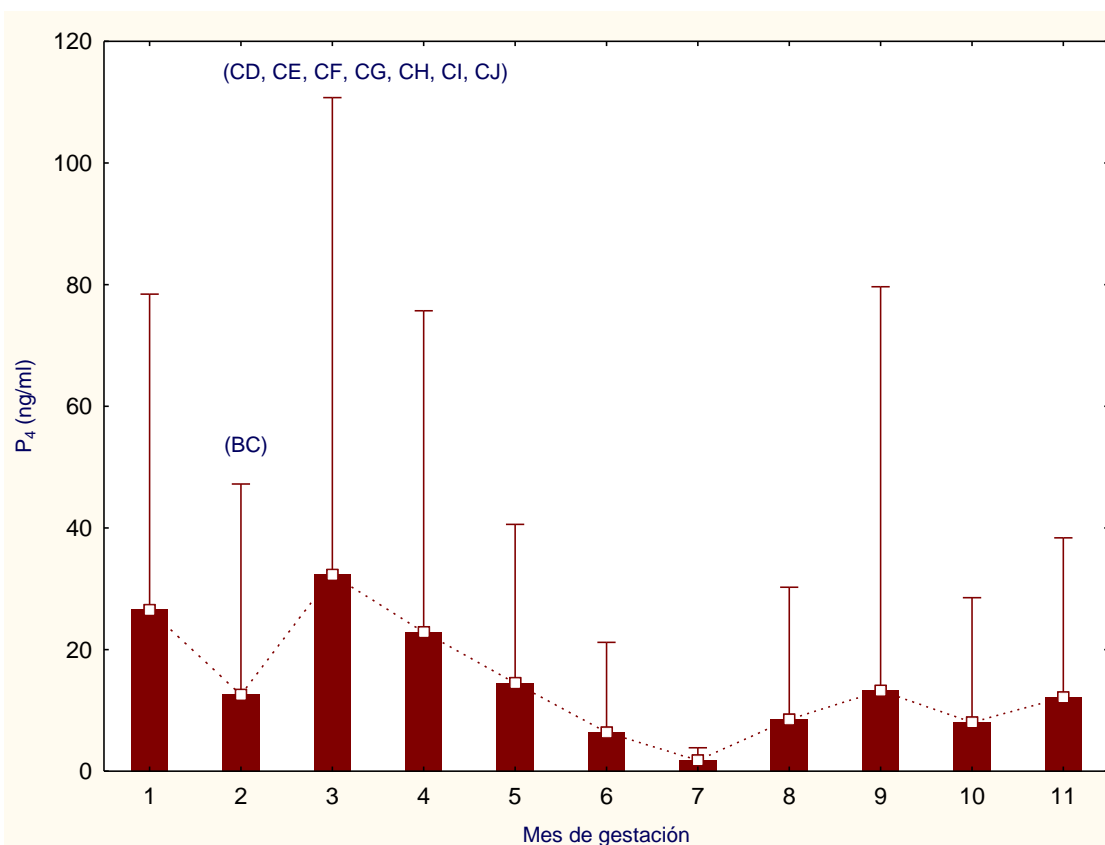


FIGURA 11.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de progesterona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE (BC: diferencias entre el segundo y tercer mes; CD: diferencias entre el tercer y cuarto mes; CE: diferencias entre el tercer y quinto mes; CF: diferencias entre el tercer y sexto mes; CG: diferencias entre el tercer y séptimo mes; CH: diferencias entre el tercer y octavo mes; CI: diferencias entre el tercer y noveno mes; CJ: diferencias entre el tercer y décimo mes) ($p < 0,05$).

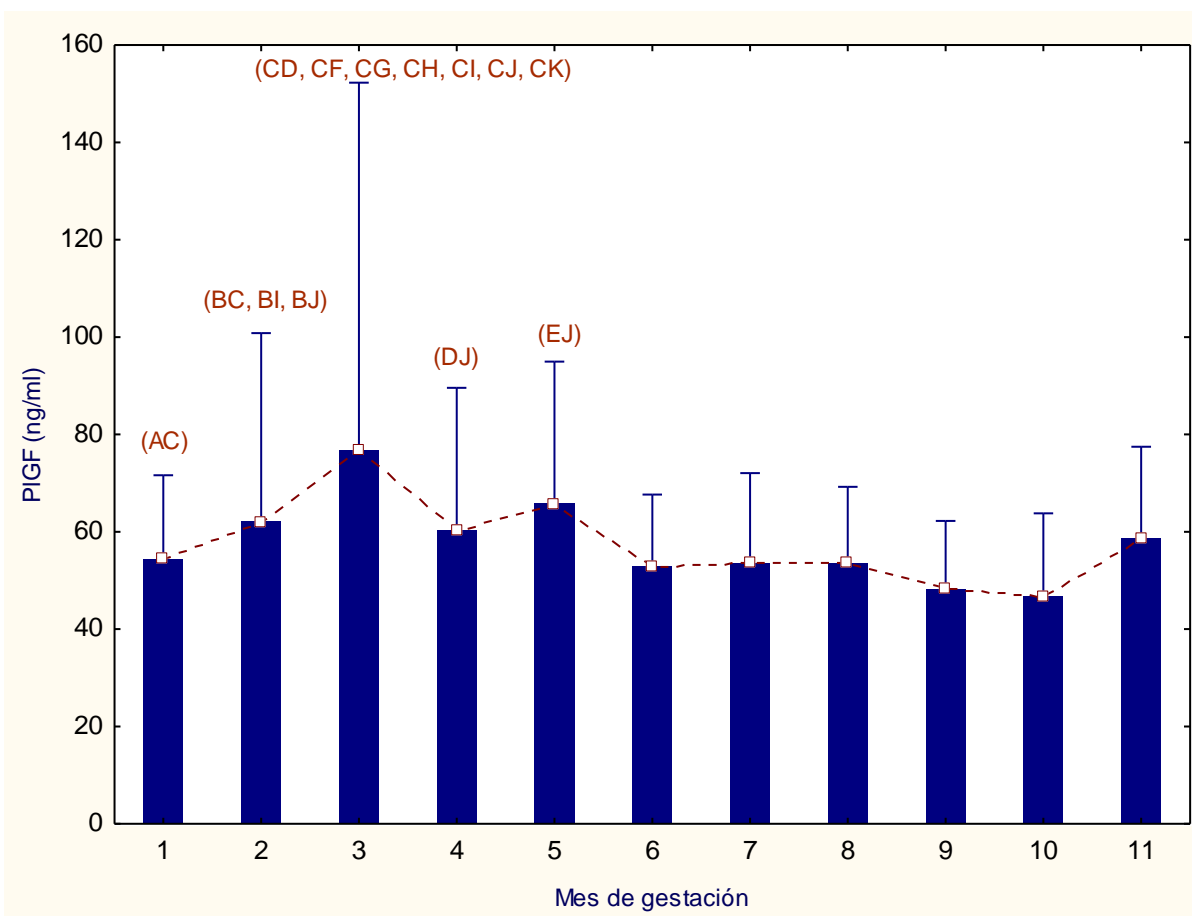


FIGURA 12.-Valores medios \pm DS de las concentraciones de factor de crecimiento placentario a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE (AC: diferencias entre el primer y tercer mes; BC: diferencias entre el segundo y tercer mes; BI: diferencias entre el segundo y noveno mes; BJ: diferencias entre el segundo y décimo mes; CD: diferencias entre el tercer y cuarto mes; CF: diferencias entre el tercer y sexto mes; CG: diferencias entre el tercer y séptimo mes; CH: diferencias entre el tercer y octavo mes; CI: diferencias entre el tercer y noveno mes; CJ: diferencias entre el tercer y décimo mes; CK: diferencias entre el tercer y décimo primer mes; DJ: diferencias entre el cuarto y décimo mes; EJ: diferencias entre el quinto y décimo mes) ($p < 0,05$).

4.3.-COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE LOS NEUROTRANSMISORES, HORMONAS HIPOFISARIAS, PLACENTARIAS, ADRENALES Y FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA YEGUA PRE DURANTE LA GESTACIÓN

En la tabla 14 se presentan los coeficientes de correlación para las variables previamente analizadas durante la gestación en el efectivo total de yeguas PRE.

	T (ng/ml)	A ₄ (ng/ml)	IGF-1 (ng/ml)	PIGF ng/ml	ADR (ng/ml)	NORADR (ng/ml)	DA (pg/ml)	DHEA (ng/ml)	GH (ng/ml)	5-HT (ng/ml)	ACTH (pg/ml)	CORT (ng/ml)	P ₄ (ng/ml)	E ₁ S (pg/ml)
T (ng/ml)	1,00	0,34	-0,12	-0,00	-0,03	-0,12	0,13	0,40	-0,09	-0,19	0,08	0,04	0,07	0,26
A ₄ (mg/dl)		1,00	0,10	0,11	0,11	-0,03	0,03	0,38	-0,16	-0,15	0,32	0,14	0,19	0,12
IGF-1 (ng/ml)			1,00	0,07	0,05	-0,07	-0,08	0,03	0,05	0,04	-0,06	0,18	0,08	-0,05
PIGF (ng/ml)				1,00	0,03	-0,01	0,00	0,08	-0,06	-0,12	0,06	0,12	0,12	-0,08
ADR (ng/ml)					1,00	0,05	-0,11	-0,01	-0,10	-0,10	-0,03	-0,05	0,18	-0,08
NORADR (ng/ml)						1,00	0,08	-0,04	-0,02	-0,02	0,10	-0,24	0,04	-0,11
DA (pg/ml)							1,00	0,16	0,06	0,14	0,13	0,08	-0,04	0,08
DHEA (ng/ml)								1,00	-0,04	0,11	0,13	0,21	0,05	0,23
GH (ng/ml)									1,00	0,24	-0,13	-0,03	-0,03	0,11
5-HT (ng/ml)										1,00	-0,02	-0,08	-0,20	0,12
ACTH (pg/ml)											1,00	0,07	0,02	-0,01
CORT (ng/ml)												1,00	-0,02	0,02
P ₄ (ng/ml)													1,00	0,05
E ₁ S (pg/ml)														1,00

Tabla 14: Coeficientes de correlación entre los diversos parámetros hormonales y factores de crecimiento analizados en las 33 yeguas PRE (* $p < 0,05$).

DISCUSIÓN

5.-DISCUSIÓN

Dada la implicación de los neurotransmisores (ADR, NORADR, 5-HT y DA), hormonas hipofisarias (ACTH y GH), placentarias (A_4 , DHEA, T, E_1S y P_4), adrenales (CORT) y factores de crecimiento (PIGF e IGF-1) en procesos fisiológicos durante el ciclo reproductivo que incluyen desarrollo folicular, ovulación, establecimiento del CL, desarrollo de la placenta y del feto, este estudio evalúa las fluctuaciones fisiológicas normales que experimentan estos parámetros así como las interrelaciones existentes entre ellos durante la gestación. A tal fin, se han analizado un total de 363 extracciones sanguíneas correspondientes a 33 yeguas PRE testadas durante los 11 meses de gestación. 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 DE REFERENCIA DE LAS CONCENTRACIONES DE NEUROTRANSMISORES, HORMONAS HIPOFISARIAS, PLACENTARIAS, ADRENALES Y FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA YEGUA PRE

5.1.1.-NEUROTRANSMISORES

5.1.1.1.-ADRENALINA Y NORADRENALINA

Las concentraciones medias de ADR y NORADR en la yegua PRE fueron superiores a las descritas en diversas razas equinas como, Standardbred (Jiménez y cols., 1998; Baragli y cols., 2010), PSI (Hardee y cols., 1982; Kurosawa y cols., 1997; 1998; Nagata y cols., 1999; Podolak y cols., 2006; Bashir y Rasedee, 2009) y árabes (Podolak y cols., 2006) e inferiores a las mostradas en caballos cruzados (Ayala y cols., 2012). Numerosas situaciones fisiológicas que incluyen miedo, excitación sexual, dolor (Pääkkönen y Leppäluoto, 2000), ejercicio (Baragli y cols., 2010), variaciones circadianas (Kurosawa y cols., 1997), transporte (Tischner y cols., 2006) y condiciones ambientales (Marlin, 2007) inducen activación del SNS mediada por la secreción de catecolaminas. Estas circunstancias podrían justificar parcialmente las diferencias observadas entre los resultados obtenidos en las diversas investigaciones, ya que el sexo no parece ejercer influencia en relación a las catecolaminas (Ayala y cols., 2012).

Algunas investigaciones en équidos han revelado que la edad no modifica los niveles de catecolaminas en équidos (Donaldson, 1988; Ayala y cols., 2012; Seddighi y Doherty, 2012; Marcilla y cols., 2014). Aunque la ausencia de variaciones en relación a la edad queda constatada también en seres humanos (Abd-Allah y cols., 2004) y cánidos (Delorey y cols., 2012) estas evidencias resultan contradictorias, ya que algunos estudios han revelado que el número de receptores adrenérgicos y la síntesis suprarrenal de catecolaminas se reduce sensiblemente con el avance de la edad (Sophie, 2007; Seddighi y Doherty, 2012; Amano y cols., 2013), si bien, el descenso es más notable en la ADR. Además, la actividad de las neuronas noradrenérgicas periventriculares anteroventrales se incrementa con la edad, comprometiendo los efectos estimuladores, relacionándose con irregularidades en el ciclo estral y la senescencia reproductiva (Ferreira y cols., 2015).

Por otro lado, el SNS regula la función inmunitaria vía liberación tónica y unión de la NORADR a sus receptores β_2 -adrenérgicos expresados a nivel de los inmunocitos. Con la edad, la actividad nerviosa simpática basal aumenta progresivamente (Docherty, 2002), provocando respuestas exageradas secundarias a la activación del SNS. Esta hiperactividad del SNS induce sobreestimulación a nivel de los tejidos diana, alterando el intercambio de células inmunes

(Redwine y cols., 2003) y los mecanismos de defensa (Bellinger y cols., 2008 a, b), lo cual puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades autoinmunes en individuos de edad avanzada. Cabe destacar que la elevación de catecolaminas a nivel cerebral es neurotóxica, ya que la degradación genera gran cantidad de ROS (Chinta y Anderson, 2008). En relación a estos acontecimientos, Pérez y cols. (2012) investigaron los mecanismos implicados en la neurotransmisión esplénica tras el aumento del tono simpático en roedores con el avance de la edad. La administración de simpaticolíticos indujo descenso plasmático de NORADR y aumento de la densidad de receptores β -adrenérgicos, sugiriendo que el descenso del tono simpático ejerce un efecto protector sobre la integridad de los nervios y aumenta la neurotransmisión simpática en órganos inmunitarios secundarios.

Las condiciones térmicas y las variaciones circadianas también son factores que modifican substancialmente la síntesis y liberación de catecolaminas. La ADR y NORADR muestran un patrón diurno, con niveles máximos a primera hora de la mañana y mínimos durante la noche (Kurosawa y cols., 1997). Por otro lado, la elevación de la temperatura ambiental incrementa la actividad β_2 -adrenérgica de las glándulas sudoríparas mediante la liberación de catecolaminas (Mayhew y Ferguson, 1987; Marlin, 2007). En équidos, el ejercicio activa la sudoración (Bashir y Rasedee, 2009), ya que el 80% del calor corporal se elimina mediante evaporación a través del sudor (Jenkinson y cols., 2007). No debemos obviar el posible efecto que pudieran haber ejercido las condiciones térmicas y las variaciones diurnas sobre la síntesis de catecolaminas, ya que las muestras fueron tomadas entre las 8:00 y las 11:00 horas a lo largo de los 11 meses, incluyendo las estaciones de primavera y verano, con elevada temperatura y humedad. En équidos mantenidos en climas cálidos y húmedos los mecanismos de termorregulación pueden deteriorarse de forma severa. Las glándulas sudoríparas equinas son de tipo apocrino, y la ADR circulante y la liberada a nivel local estimulan la síntesis de sudor. Se ha documentado que la secuencia estimuladora alterada generada a nivel del SNC así como la respuesta inadecuada de las glándulas sudoríparas debido a la habituación de los receptores a elevados niveles circulantes de ADR puede impedir la correcta secreción y excreción de sudor (anhidrosis) (Warner y Mayhew, 1983; Wilson y cols., 2007; Bovell y cols., 2013). Aunque ambas catecolaminas se elevan en condiciones de anhidrosis, el papel de la ADR es cuantitativamente superior (Beadle y cols., 1982).

Algunos estudios han evaluado el efecto del transporte sobre el comportamiento y la respuesta al estrés de los sistemas SA e HHA en yeguas cíclicas y gestantes. Así, tras un transporte de mediana intensidad, los niveles de ADR y NORADR se elevan en yeguas durante

el celo del potro (9 días del parto) a partir de los 10 minutos hasta los 30 minutos después de iniciado el transporte (Tischner y Niezgodá, 2000). En base al pico de ADR y NORADR, la reacción más intensa al estrés se registra durante el diestro frente a la gestación. Estas evidencias sugieren que la susceptibilidad al estrés está relacionada con el estado fisiológico de la yegua (Tischner y cols., 2006).

En équidos de diversas razas como, PSI (Martínez y cols., 1988; Kurosawa y cols., 1997; 1998; Nagata y cols., 1999; Colahan y cols., 2006; Podolak y cols., 2006), Standardbred (Baragli y cols., 2006; 2010; Cuniberti y cols., 2012), árabes (Podolak y cols., 2006; Cuniberti y cols., 2012) y otras razas equinas (Scott y cols., 2001) el ejercicio aumenta las concentraciones de ADR y NORADR, aunque las cifras alcanzadas fueron inferiores a las obtenidas en la yegua PRE. Este resultado fue sorprendente, ya que aunque el ejercicio y el entrenamiento inducen una considerable estimulación neuronal e hipofisaria, tal vez la gestación podría provocar modificaciones más notables que la propia actividad física. En relación al ejercicio, los impulsos emitidos por parte de los músculos activos, así como los centros motores del SNC modifican la respuesta de las glándulas endocrinas a través del SA u hormonas hipofisarias (Thornton, 1985). Las catecolaminas desempeñan un papel fundamental en la fisiología del ejercicio, ya que aumentan la frecuencia respiratoria y cardíaca, la presión arterial, la sudoración, así como la movilización de sustratos energéticos necesarios para el metabolismo energético (Geor y cols., 1985 a, b; Baragli y cols., 2006; 2010).

Las catecolaminas son sensibles a la intensidad del ejercicio, si bien, los cambios son difíciles de estimar ya que las variaciones se producen rápidamente debido a la corta vida media de estas moléculas. Algunos autores informaron que en caballos PSI el ejercicio de intensidad máxima aumenta en 6 a 7 veces los valores basales de NORADR y ADR, respectivamente, en muestras sanguíneas extraídas 5 minutos después de la carrera (Martínez y cols., 1988). Posteriormente, Snow y cols. (1992) registraron aumentos de 153 y 148 nmol/L veces para la ADR y NORADR, frente a valores basales, de forma respectiva. La técnica de extracción sanguínea utilizada en este último estudio permitió a los autores observar un aumento exponencial de la ADR y NORADR en relación al ejercicio en sí, aunque se ve influido considerablemente por la habilidad manual del operador, presentando dificultades en la reproducibilidad de los resultados. González y cols. (1998) analizaron los efectos del estrés sobre los receptores β -adrenérgicos a nivel de las membranas eritrocitarias y las concentraciones plasmáticas de ADR y NORADR en équidos PSI en reposo y después de la realización del ejercicio. Transcurridos 5 minutos después del inicio de la carrera a velocidad

máxima, ambas catecolaminas incrementaron, si bien, el aumento de ADR fue comparativamente superior. Aunque las respuestas de la médula adrenal y SA se incrementaron, la expresión de los receptores β -adrenérgicos eritrocitarios disminuyó. Esta respuesta homeostática al estrés podría representar un mecanismo protector frente a la reducción de la flexibilidad y fragilidad de la membrana eritrocitaria inducida vía adrenérgica. Adicionalmente, Cuniberti y cols. (2012) mostraron que aunque la ADR se incrementa en caballos de salto, esta respuesta es más notable en relación a la NORADR en trotones Standardbred, sugiriendo la influencia de la raza y del tipo de ejercicio realizado así como la regulación de receptores adrenérgicos linfocitarios y linfocitos circulantes, aunque el mecanismo se desconoce.

A pesar de ello, la administración experimental de agonistas α_2 -adrenérgicos induce signos de supresión adrenérgica, con descenso de ADR, CORT y el ritmo cardiaco, ayudando a mejorar la resistencia, aunque no altera el consumo de oxígeno, la producción de dióxido de carbono, los niveles de lactato, así como las concentraciones de NORADR y ACTH. Estas evidencias sugieren un efecto positivo del ejercicio sobre los niveles de ADR, sin modificaciones en la NORADR (Colahan y cols., 2006). Además, Baragli y cols. (2010) mostraron que la cinética de las catecolaminas parece indicar que durante el ejercicio intenso no existen diferencias substanciales en los procesos que activan el sistema SA entre caballos entrenados y no entrenados. De cualquier forma, estas variaciones parecen ser más notables en la fase de recuperación. De hecho, las concentraciones plasmáticas de ADR y NORADR disminuyen de forma lineal y lentamente 10 minutos después de haber terminado el ejercicio, en discrepancia con su corta vida media (Snow y cols., 1992). La hipótesis que explica estas modificaciones podría estar relacionada con los niveles ADR y NORADR liberados después del ejercicio de intensidad moderada durante la fase de recuperación, como documentaron Nagata y cols. (1999). La persistencia de la actividad del eje SA en esta fase indica la mayor sensibilidad al estrés en équidos no entrenados (Baragli y cols., 2010). Además, las bajas correlaciones establecidas entre la ADR y NORADR sugieren que en caballos no entrenados la liberación de cada molécula difiere a nivel de circulación periférica debido a la acción de la médula adrenal y la implicación del SNS en ejercicios de alta intensidad. Se ha sugerido que la amplia variabilidad entre las dinámicas de las catecolaminas también puede reflejar las variaciones individuales en el eje SA en respuesta al ejercicio (Snow y cols., 1992; González y cols., 1998). Asimismo, cuando el ejercicio se prolonga, la respuesta hormonal se asocia a factores adicionales como,

la temperatura, la disponibilidad de glucosa, la presión de oxígeno y cambios en el volumen plasmático (Thornton, 1985).

Por otro lado, Baragli y cols. (2011) compararon la liberación de catecolaminas en poneis cuyas muestras sanguíneas fueron tomadas en el box y treadmill. Los animales en treadmill mostraron incremento 9,6 veces superior al basal para la ADR y 6,7 para la NORADR tras la finalización de la última etapa del ejercicio. Sin embargo, la cuarta etapa indujo un aumento de 1,2 y 2,4 veces superior para la ADR y NORADR, respectivamente, en poneis estabulados. Esta tendencia observada en poneis es similar a la mostrada en Standardbreds y PSI, sugiriendo, además, una respuesta anticipatoria al ejercicio.

La metodología de análisis es otro de los factores que podría haber condicionado al menos en parte las diferencias entre los resultados de las diversas investigaciones. De hecho, la utilización de la técnica de ELISA para la cuantificación de estas catecolaminas reporta cifras similares en el estudio de Ayala y cols. (2012) y en las yeguas de esta investigación. Sin embargo, con la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) se describen cifras inferiores (Hardee y cols., 1982), a pesar de que ambas técnicas están positivamente correlacionadas (Westermann y cols., 2002).

Finalmente, destacar las diferencias existentes entre los resultados mostrados en yeguas fisiológicamente sanas y en presencia de procesos patológicos como, el síndrome abdominal, la miositis, la artritis y los traumatismos. Dichas patologías inducen una elevación substancial de catecolaminas en plasma en respuesta a la actividad simpática secundaria al dolor, hipoxia tisular e hipotensión (Hinchcliff y cols., 2005; Ayala y cols., 2012). La gravedad del síndrome abdominal agudo se refleja mayoritariamente en la ADR, que al mismo tiempo se correlaciona negativamente con la tasa de supervivencia (Hinchcliff y cols., 2005). En seres humanos, suidos y animales de experimentación, la endotoxemia y el shock séptico elevan las catecolaminas, que al igual que en el caballo, se relacionan con la gravedad del proceso (Donaldson y cols., 1993; Boillot y cols., 1997). Aunque la laminitis aguda aumenta los niveles plasmáticos de ambas catecolaminas (Moore y cols., 1981), algunas investigaciones sólo han mostrado un incremento diferencial de NORADR (Hodson y cols., 1986; Ayala y cols., 2012), sugiriendo la estimulación de las fibras simpáticas en respuesta al dolor y al estrés (Rietmann y cols., 2004).

5.1.1.2.-SEROTONINA

La 5-HT fue la variable que más fluctuó a lo largo del estudio, oscilando entre 2,64 y 1.610,62, con un valor medio de $463,43 \pm 291,60$ ng/ml. Estos datos confirman la amplia variabilidad existente entre los resultados mostrados en los diversos estudios (Bailey y Elliott, 1998; Alberghina y cols., 2010; Bruschetta y cols., 2013; Torfs y cols., 2013; 2015). De hecho, el rango de 5-HT según algunos estudios fluctúa entre 200 y 616 ng/ml, llegando incluso hasta 976 ng/ml (Meral y cols., 2007). No obstante, en équidos de diversas razas, Ayala y cols. (2012) mostraron cifras superiores a las de la yegua PRE, si bien, en ambos estudios la técnica analítica de cuantificación de dicha catecolamina fue la misma. La divergencia entre las investigaciones podría relacionarse con el efecto de la edad, ya que las diferencias en la tasa de síntesis entre potros y équidos adultos es un hecho constatado en esta especie (Ferlazzo y cols., 2012), documentándose valores medios significativamente superiores potros. Esta respuesta rebate la mostrada en seres humanos, ya que el avance de la edad no modifica la serotoninemia (Hindberg y Naesh, 1992; Gall y cols., 2011). Aunque las modificaciones que se establecen en relación al sexo son contradictorias, detectándose niveles inferiores (Picard y cols. 1985), superiores (Ortiz y cols.1988) o similares (Hindberg y Naesh, 1992) en mujeres frente a hombres, en équidos Ayala y cols. (2012) no registraron diferencias entre machos y hembras. Estas observaciones descartan la posible influencia del sexo sobre los resultados de los diversos estudios.

Algunos factores fisiológicos como, la alimentación, los ritmos circadianos, el ejercicio y el entrenamiento así como la altitud han sido reconocidos como fuente importante de variación de la 5-HT en équidos. Según se ha expresado previamente en el apartado de revisión bibliográfica, las células enterocromafines intestinales sintetizan y almacenan aproximadamente el 95% de la 5-HT total, liberándola en respuesta a la elevación de catecolaminas circulantes, estimulación nerviosa vagal (Ahlman y cols., 1987; Tyce, 1990) e incremento de la presión intraluminal (Alberghina y cols., 2010, a). Durante el ayuno, se produce un cambio en la expresión de los receptores para la 5-HT de origen intestinal (HT2B), favoreciendo la lipólisis y gluconeogénesis e inhibiéndose la captación de glucosa por parte del hígado (Sumara y cols., 2012; Cataldo y cols., 2014). Al liberarse conjuntamente con la insulina, la 5-HT periférica podría ejercer un papel importante en la homeostasis de la glucosa mediante la expresión y activación diferencial de receptores de superficie a nivel de hepatocitos, adipocitos y células β -pancreáticas (Cataldo y cols., 2014). No obstante, el incremento postprandial de 5-HT plasmática en équidos responde a la estimulación mecánica ejercida por

los movimientos peristálticos y al incremento de actividad de las neuronas serotoninérgicas (Alberghina y cols., 2011). Dicho aumento es superior en animales alimentados con raciones altas en fibra frente a los que consumen dietas ricas en almidón (Alberghina y cols., 2010, b). Además, el contenido de triptófano en la dieta influye notablemente sobre los niveles de 5-HT, ya que la hidroxilación por parte de la enzima TPH constituye el paso limitante en la síntesis de dicho neurotransmisor (Tyce, 1990). Así, dietas ricas en proteínas, como la alfalfa y cereales (avena, trigo, cebada o soja) pueden modificar sensiblemente los niveles plasmáticos de 5-HT, ya que son fuentes importantes de dicho neurotransmisor (Noble y cols., 2008; Alberghina y cols., 2010).

Por otro lado, la 5-HT está sujeta a fluctuaciones diarias y variaciones estacionales a lo largo del año. No obstante, en un estudio previo realizado por Bailey y cols. (2003) no se evidenciaron diferencias en las concentraciones plasmáticas de 5-HT en primavera, verano, otoño e invierno en potros clínicamente sanos. Sin embargo, Haritou y cols. (2008) revelaron descenso de 5-HT en animales cushingoides durante las estaciones de verano (junio) e invierno (diciembre). Aunque las razones de esta reducción se desconocen, el aumento de la conversión de 5-HT en melatonina podría explicar al menos parcialmente dicho descenso, si bien, no debe descartarse el número de plaquetas presentes en las muestras sanguíneas, como posteriormente será discutido (Bailey y Elliott, 1998).

Aunque las diferencias existentes entre los periodos de luz y oscuridad no han sido investigadas en el presente estudio, se han reportado aumentos séricos nictemerales de 5-HT y triptófano, con acrofases nocturnas en équidos atléticos sanos expuestos a fotoperiodo otoñal (Piccione y cols., 2005). La acrofase para el triptófano se produce 30 minutos antes que la de 5-HT, relacionada con el papel de la hidroxilación del triptófano necesaria para la biosíntesis de dicho neurotransmisor. El estado nutricional puede alterar la neuroquímica cerebral, especialmente los hidratos de carbono, ácidos grasos no esterificados (NEFAs) y la 5-HT (Reppert y Weaver, 2001). De hecho, los aminoácidos ramificados (branched-chain amino acids ó BCAAs) y los NEFAs son competidores del triptófano a nivel del transportador en la barrera hematoencefálica durante la realización del ejercicio físico. Ambos desplazan al triptófano de sus lugares de unión a la albúmina, de forma que pueden favorecer la síntesis de 5-HT debido a la mayor biodisponibilidad de su precursor. En ejercicios de corta duración y baja intensidad, el organismo utiliza los hidratos de carbono y grasas (ácidos grasos libres o triglicéridos intramusculares) aunque en el músculo esquelético se oxida entre 1% a 6% del

total de energía procedente de los aminoácidos (gluconeogénesis) y a nivel muscular a través de los BCAAs, con elevación transitoria de triptófano y 5-HT (Melacon y cols., 2014).

Sin embargo, en ejercicios de larga duración, la energía es obtenida a partir de los lípidos, haciendo que el triptófano pueda circular libremente en sangre periférica. Cuando las proporciones de triptófano y otros BCAAs, como leucina, isoleucina y valina se incrementan en sangre, el aumento de la síntesis cerebral de 5-HT responde a mecanismos específicos que incrementan el transporte de dichas sustancias al cerebro. Durante el ejercicio prolongado, el exceso de 5-HT puede deteriorar la función del SNC, provocando fatiga central y en consecuencia, disminuir el rendimiento físico (Newsholme y Blomstrand, 2006; Meeusen y Watson, 2007).

El aumento plasmático de NEFAs conduce a un aumento de triptófano libre y cerebral, ambos necesarios para la síntesis de 5-HT (Chaouloff y cols., 1989). A pesar de ello, en trotones Standardbred las concentraciones de triptófano descienden tras un ejercicio intenso de corta duración (Hackl y cols., 2009) y en caballos de resistencia es variable, detectándose niveles significativamente superiores tras una carrera de resistencia de 32 kilómetros, o disminución, después de 72 kilómetros de distancia (Bergero y cols., 2005). Cabe mencionar que del total de la 5-HT, únicamente el 5% corresponde al metabolismo total del triptófano (Tyce, 1990). Entre otros factores relacionados con el incremento de la serotonemia durante el ejercicio destacan el incremento de actividad de las células enterocromafines intestinales, el aumento de plaquetas secundario a deshidratación así como al grado de contracción esplénica (Alberghina y cols., 2010, a).

La localización geográfica parece ser otro factor relacionado con las variaciones de las concentraciones plasmáticas de 5-HT. Así, yeguas localizadas en altitudes elevadas muestran mayores concentraciones de 5-HT respecto a las que habitan a nivel del mar (Bruschetta y cols., 2013).

Por otro lado, el protocolo de manejo de las muestras y el método laboratorial empleado en el análisis son importantes fuentes de variación del número de plaquetas y de 5-HT. De hecho, las plaquetas constituyen un reservorio sustancial de dicho neurotransmisor, estableciéndose una proporcionalidad entre los niveles plasmáticos de 5-HT y el número de plaquetas (Bailey y cols., 1998; Kremer y cols., 1990; Alberghina y cols., 2010). Así, el manejo inadecuado de la muestra puede conducir a la activación plaquetaria *in vitro* y la agregación con la consiguiente liberación de 5-HT, elevando erróneamente las cifras plasmáticas. Asimismo factores como el tiempo y la velocidad de centrifugación, el tipo de anticoagulante y

los métodos laboratoriales empleados en la determinación también influyen sobre los resultados (Bailey y Elliott, 1998; Bailey y cols., 2003; Haritou y cols., 2008; Alberghina y cols., 2010; Ayala y cols., 2012; Torfs y cols., 2013; 2015). El uso de diferentes velocidades de centrifugación para la obtención de factores de crecimiento provoca variación en el contenido plaquetario y, consecuentemente, en los niveles plasmáticos de 5-HT (Bailey y Elliot, 1998; Bailey y cols., 2003). Por este motivo, para la determinación exacta, es imprescindible el uso de plasma pobre en plaquetas, ya que la extracción inadecuada de la muestra puede generar subestimación de los valores (Haritou y cols., 2008; Tofs y cols., 2012). En relación a la metodología de análisis cabe destacar que en el presente estudio las concentraciones plasmáticas mediante ELISA fueron superiores a las mostradas por Bailey y Elliot (1998) y Alberghina y cols. (2010) a través de HPLC, sin procesamiento previo para la extracción de plaquetas. Aunque no podemos precisar exactamente, tal vez estos factores podrían haber condicionado parcialmente las diferencias entre los resultados de las diversas investigaciones. Entre otras fuentes de variabilidad destacan los diferentes protocolos de centrifugación, la adición de estabilizadores plaquetario y los métodos analíticos utilizados para cuantificar los niveles plasmáticos de 5-HT (Ayala y cols., 2012; Torfs y cols., 2012).

La existencia de interacciones entre la dieta, la microflora y las células intestinales parecen influir potencialmente sobre la síntesis, secreción y degradación de 5-HT, responsables de las alteraciones serotoninérgicas observadas en patologías gastrointestinales (Manocha y Khan, 2012). De hecho, la administración de dietas ricas en carbohidratos fácilmente fermentables en équidos provoca cambios en la microflora y disminución del pH, debido a la formación de ácido láctico. La mayor disponibilidad de sustrato fermentable por parte de las bacterias hace que se active la enzima decarboxilasa encargada de la conversión de aminoácidos libres en monoaminas. Estos compuestos sintetizados en el ciego, son estructuralmente similares a las aminas endógenas, como la 5-HT, por lo que pueden potenciar sus efectos, estimular sus receptores, evitar su captación por parte de las plaquetas o competir para ser metabolizadas por la enzima monoamino oxidasa (MAO). De hecho, el incremento de 5-HT y aminas cecales, son considerados factores de riesgo de las alteraciones vasculares digitales producidas en los episodios de laminitis asociados con sobrecarga de carbohidratos en la dieta (Bailey y cols., 2003; Elliott y Bailey, 2006; Costa y cols., 2012). De forma similar, el compromiso intestinal secundario a cólicos estrangulantes (Delesalle y cols., 2008) y endotoxemia (Menzies-Gow y cols., 2004) inducen elevaciones significativas de 5-HT, probablemente relacionados con sus propiedades proinflamatorias, vasoconstrictoras e

inmunomoduladoras (Delesalle y cols., 2008). No obstante, la respuesta serotoninérgica en casos de síndrome abdominal agudo es controvertida, habiéndose documentado, incrementos (Delesalle y cols., 2008) o descensos (Ayala y cols., 2012; Torfs y cols., 2015).

Los estadios agudos o graves de miositis, traumatismos y artritis cursan con descensos, mientras que las patologías crónicas como, osteoartritis y cirugías menores estimulan la secreción de 5-HT (Ayala y cols., 2012). No obstante, alteraciones comportamentales asociadas con agresividad y estereotipias reducen la actividad serotoninérgica (Lebelt y cols., 1998; Meral y cols., 2007). En estos casos, la administración de inhibidores de la recaptación de 5-HT como la clomipramina o de L-triptófano han mostrado efectos positivos, si bien se desconoce si son debidos a acciones concretas sobre los mecanismos neurendocrinos implicados, o al efecto calmante general de este tipo de fármacos (Lebelt y cols., 1998; McDonnel, 1998). De hecho, se discute la eficacia calmante de estos fármacos en équidos excitables (Noble y cols., 2016), ya que el triptófano a bajas dosis causa excitación leve, mientras que a dosis elevadas, reduce la capacidad de resistencia e incluso provoca anemia hemolítica aguda si se administra por vía oral (Grimmett y Sillence, 2005).

5.1.1.3.-DOPAMINA

Los niveles medios de DA en la yegua PRE fueron similares a los obtenidos en équidos PSI (Hardee y cols., 1982), inferiores a los mostrados en caballos árabes (Podolak y cols., 2006) y superiores a los descritos en équidos adultos sanos PSI (Beadle y cols., 1982). Estas variaciones entre resultados en principio, podrían estar relacionadas con la variedad racial, el ejercicio, el patrón estacional y la edad. De hecho, en carreras de intensidad moderada, los niveles de DA en caballos árabes incrementan respecto al PSI, sugiriendo una mayor actividad dopaminérgica en respuesta al ejercicio en équidos de raza árabe (Podolak y cols., 2006).

La DA presenta un patrón estacional, con aumento de la secreción en otoño e invierno, frente a otras estaciones del año (Melrose y cols., 1990; Case, 2010). Esta respuesta ha sido documentada en yeguas intactas (Melrose y cols., 1990; Haritou y cols., 2008; Case, 2010) así como en otras especies como, la mujer (Eisenberg y cols., 2010) y animales de experimentación (Uz y cols., 2003). Este hecho queda constatado tras la realización de la ovariectomía, ya que esta práctica quirúrgica inhibe la ritmicidad circannual. Existen factores como la edad y el sexo que influyen sobre este patrón, aunque con evidencias contradictorias. Así, mientras que en hembras prepúberes la actividad dopaminérgica es superior a la de

sementales de la misma edad (Melrose y cols., 1990), el patrón estacional no parece ser diferente entre machos y hembras (Case, 2010), si bien, en potros PSI los niveles se duplican frente a los de adultos (Beadle y cols., 1982; Podolak y cols., 2006).

En yeguas cíclicas la DA interactúa con los receptores dopaminérgicos D1 y D2 uniformemente distribuidos en el tejido luteal, provocando efectos directos o indirectos sobre la actividad gonadal, desarrollo folicular, maduración ovocitaria y la ovulación (Daels y cols., 2000; Nagy y cols., 2000; Kings y cols., 2005; Kelley y cols., 2006). La DA es un potente inhibidor de la síntesis de PRL. Así, la administración de PRL estimula el crecimiento folicular y adelanta la primera ovulación del año en yeguas en anestro (Panzany y cols., 2011) influenciada por la temperatura y el fotoperiodo (Nagy y cols., 1999; Brendemuehl y Cross, 2000). Los antagonistas dopaminérgicos (domperidona y sulpirida) actúan sobre los receptores dopaminérgicos D2, provocando liberación de PRL a nivel hipofisario, incremento del número de receptores para la FSH y/o LH y aumento de la sensibilidad ovárica a las gonadotropinas (Nagy y cols., 2000; Panzani y cols., 2011). A pesar de ello, la aplicación de este tipo de terapias arroja evidencias contradictorias. De hecho, mientras que algunos estudios muestran estimulación del desarrollo folicular, producción de estrógenos conjugados y ciclicidad en yeguas en anestro (Besognet y cols., 1996; Brendemuehl y Cross, 2000), otras investigaciones verifican fallos en la actividad ovárica (Donadeu y Thompson, 2002) debido a la falta de estimulación de la FSH (Brendemuehl y Cross, 2000; Donadeu y Thompson, 2002). En conocimiento de los autores, no existe documentación científica del uso de antagonistas de DA en yeguas gestantes, si bien, en yeguas recién paridas, el tratamiento con sulpirida 5 semanas tras el momento de la adopción desarrolla comportamiento maternal de aceptación al potro huérfano, mantenimiento de la lactación y la tasa de crecimiento del potro hasta el momento del destete aparentemente normales (Daels y cols., 2002).

En seres humanos, el 95% de la DA existente en circulación se encuentra en forma de sulfato de DA. Goldstein y cols. (1999) evaluaron las concentraciones plasmáticas de sulfato de DA después de ingerir alimentos, en ayuno de 4 días, así como tras la infusión intravenosa de L-DOPA. Aunque la ingestión de alimento experimenta un incremento 50 veces superior a los basales, el ayuno prolongado provoca un ligero descenso. La infusión L-DOPA induce aumento significativamente superior de sulfato de DA que de DA. Estos mismos investigadores encontraron sulfato de DA en los troncos venosos arteriales-portales, sugiriendo su origen mesentérico. La mayor parte de la forma sulfoconjugada de la DA se excreta vía urinaria,

hallazgo consistente con la localización de la enzima encargada de la conversión de DA en sulfato de DA a nivel de los tejidos gastrointestinales.

La infusión intravenosa de DA durante 60 minutos a concentraciones de 2,5-5,0 ug/kg/min en équidos induce aumento del flujo sanguíneo renal y del volumen de orina excretado, aunque la osmolaridad disminuye a dosis de 5,0 µg/Kg/min, sin modificaciones de la presión sanguínea, frecuencia cardíaca y excreciones fraccionadas de sodio y potasio (Trim y cols., 1989). Por el contrario, el uso de agonistas de la DA junto a la NORADR conlleva incremento de la presión arterial, resistencia vascular periférica, diuresis, aclaramiento de la creatinina y descenso de la frecuencia cardiaca y excreción de sodio (Hollis y cols., 2006; 2008).

A nivel gastrointestinal, la administración oral de 5,0 mg de domperidona/kg favorece el vaciado gástrico, aunque a dosis de 1,1 mg/kg no se generan efectos sobre el vaciado gástrico, tiempo de tránsito, frecuencia de defecación, cantidad y humedad de las heces excretadas y actividad contráctil de las fibras circulares y longitudinales musculares del duodeno, yeyuno, íleon y colon. El 92% de los receptores β 2-adrenérgicos se encuentran en la mayoría de neuronas situadas en el plexo submucoso y sólo un 8% a nivel del plexo mioentérico. Esta distribución de receptores informa de la regulación de las neuronas secretoras y motoras que inervan las capas musculares y vasos sanguíneos ileales, moduladas por el SNS (Bombardi y cols., 2013). La domperidona a dosis de 5,0 mg/Kg disminuye la actividad contráctil inducida por la DA sobre las fibras musculares longitudinales a nivel del yeyuno (Nieto y cols., 2013). Aunque no podemos precisar exactamente, es posible que el ayuno, el grado de actividad motora intestinal y la funcionalidad renal pudiesen haber condicionado algunas de las divergencias observadas entre los resultados de las diferentes investigaciones. De hecho, el estrés, la hipoglucemia y la hipovolemia son condiciones que implican una mayor actividad simpática y por tanto, incremento de los niveles de DA (Van Loon y Sole, 1980).

Los métodos de análisis disponibles para la determinación de DA, como la HPLC, fluorescencia y ELISA han arrojado correlaciones elevadas en sueros humanos (Kim y cols., 2008), si bien, no puede descartarse el efecto que pudiesen ejercer las técnicas laborales empleadas en los diversos estudios sobre las diferencias existentes entre los niveles de DA.

Aunque de forma genérica los resultados obtenidos en la yegua PRE se encuentran dentro de los rangos de referencia establecidos para équidos adultos sanos, es importante destacar que en presencia de algunas patologías la síntesis de DA puede permanecer

disminuida o inhibida. De hecho, la infección experimental con el virus de West Nile disminuye los niveles centrales de DA provocado por el desequilibrio en la expresión de las enzimas TH y MAO. El declive en la actividad dopaminérgica, acentuada por el descenso de la expresión de los receptores dopaminérgicos, induce la sintomatología clínica característica de la enfermedad, que se asemeja a las alteraciones motoras correspondientes a la enfermedad de Parkinson en seres humanos (Bourgeois y cols., 2011). La destrucción de la sustancia negra que envía neuronas secretoras de DA al núcleo caudado y putamen, cuyas funciones son esencialmente inhibitorias, podría ser la responsable de las continuas señales excitatorias sobre la contracción muscular (Guyton y Hall, 2006). La detección de alteraciones comportamentales antes de la manifestación de procesos que cursan con disfunción dopaminérgica es un tema relevante en la actualidad en el campo de la Clínica Equina. Para identificar la posible relación entre la DA y el temperamento en el caballo, Roberts y cols. (2016) evaluaron la actividad de la DA (frecuencia de parpadeo espontáneo) y la tasa de iniciación de alteración del comportamiento. Aunque la ansiedad se correlacionó con el parpadeo, la docilidad mostró una relación inversa. Estas evidencias indican una relación entre la DA y el temperamento en el caballo (Roberts y cols., 2016), que al mismo tiempo podrían informar de trastornos, como la enfermedad neuropática de la hierba (McGorum y cols., 2015). La etiología exacta del proceso no está clara, si bien, alguna evidencia científica indica que pudiese estar relacionada con la toxicidad inducida por *Clostridium botulinum* tipo C o D. Esta patología neurodegenerativa se acompaña de cromatolisis de las neuronas simpáticas y parasimpáticas postsinápticas, en particular en el SN entérico, y de las neuronas motoras inferiores presinápticas y somáticas autónomas en el tronco cerebral y la médula espinal (Hahn y cols., 2001) y cursa con disfagia, íleo generalizado, sudoración, salivación, ptosis, rinitis seca y taquicardia (McGorum y cols., 2015).

5.1.2.-HORMONAS HIPOFISARIAS

5.1.2.1.-HORMONA ADRENOCORTICOTROPA

Aunque el valor medio de ACTH en la yegua PRE fue similar al obtenido en yeguas no gestantes PSI, Standardbred, Warmblood (Donaldson y cols., 2005) y équidos de diversas razas (Cordero y cols., 2012), alcanzó cifras superiores a las obtenidas en caballos Árabes, Hispanoárabes, Angloárabes, PRE (Castro y cols., 2013), Quarter Horse, PSI, Palomino y Tennesse Walking (Kurosawa y cols., 1998; Place y cols., 2010), équidos adultos (Couëtil y cols.,

1996) y cruzados (Hemmann y cols., 2012; Ayala y cols., 2012; Valencia y cols., 2013; Rendle y cols., 2014). No obstante, en poneis se han registrado valores medios superiores a los de la yegua PRE (Donaldson y cols., 2005). Aunque no podemos precisar exactamente, las divergencias entre resultados podrían estar relacionadas con factores como, la estacionalidad, la localización geográfica, la edad o la metodología analítica empleada en la determinación hormonal. La bibliografía documenta ampliamente que la ACTH muestra un patrón estacional en équidos, con picos máximos de secreción durante los meses de otoño (Donaldson y cols., 2005; McFarlane y cols., 2011; Schreiber y cols., 2012). De hecho, las medias alcanzadas por Donaldson y cols. (2005) y Cordero y cols. (2012) en el mes de septiembre fueron significativamente superiores a las obtenidas entre los meses de enero y mayo. Estas modificaciones estacionales están influidas por los cambios en el fotoperiodo (Giannetto y cols., 2013) mediados por la melatonina, tratándose de mecanismos metabólicos adaptativos para afrontar las inclemencias climatológicas y nutritivas durante el periodo otoñal e invernal. En relación a estos acontecimientos, es importante destacar que la localización geográfica y la latitud también son considerados factores que modifican los niveles de ACTH durante la estación otoñal. Así, las concentraciones de ACTH se incrementan marcadamente en équidos que habitan en regiones situadas al sur. Por este motivo, McFarlane y cols. (2011) mostraron que los niveles otoñales eran significativamente superiores en équidos que habitaban en Florida frente a los que residían en Massachusetts. Esta afirmación contrasta con la expuesta en el presente estudio, ya que en la yegua PRE la ACTH es superior a la de équidos adultos de la misma raza situados en ganaderías al sur de la Península Ibérica.

En la yegua PRE la extracción de las muestras sanguíneas se realizó entre las 8:00 y las 11:00 horas de la mañana, por lo que tal vez el ritmo de secreción endógeno diario pudiese haber ejercido algún tipo de influencia sobre los resultados. De hecho, Rendle y cols. (2014) revelaron picos máximos de secreción a las 8:00 horas a.m. Estas evidencias contrastan con las detectadas en otros estudios, no manifestándose oscilaciones en relación a la dinámica diaria este parámetro (Cordero y cols., 2012; Giannetto y cols., 2013).

Aunque la variedad racial podría ser otro de factores a considerar respecto a las diferencias halladas entre estudios, los resultados parecen contradictorios. De hecho, los équidos de raza Morgan presentan niveles estadísticamente superiores a los de razas ligeras de la misma ubicación (McFarlane y cols., 2011). Sin embargo, los valores medios obtenidos en la yegua PRE fueron superiores a los mostrados en équidos de la misma raza (Castro y cols., 2013), de forma que estas diferencias en principio no podrían relacionarse con la raza, por lo

que deben considerarse otros factores como, la metodología empleada en la determinación hormonal, el estado reproductivo o la edad. De hecho, Castro y cols. (2013) emplearon una técnica de inmunoensayo quimioluminiscente, mientras que en el presente estudio se recurrió al RIA, como método de determinación. Esta misma técnica también fue empleada por diversos investigadores (Couëtil y cols., 1996; Kurosawa y cols., 1998; Fazio y cols., 2009; Hemmann y cols., 2012; Ayala y cols., 2012; Cordero y cols., 2012; Valencia y cols., 2013), arrojando resultados inferiores a los de la yegua PRE. Adicionalmente, Irvine y cols. (2016) compararon los resultados obtenidos por dos analizadores automatizados, el Inmulite 1000, que utiliza un ensayo enzimático de quimioluminiscencia validado para la ACTH equina y el AIA-360, de inmunoensayo, diseñado para humana, aunque se encuentra a disposición del veterinario. Aunque el estudio mostró una buena precisión de resultados con el uso del analizador AIA-360 y la correlación entre ambos métodos era notable, para evitar falsos negativos, los resultados obtenidos mediante ambas metodologías no pueden compararse de forma intercambiable.

En la yegua PRE, los niveles variaron ampliamente entre 10,00 y 202,57 pg/ml en las yeguas PRE con edades comprendidas entre 5 y 15 años, por lo que en principio, no podríamos descartar el efecto de la edad, ya que el sexo parece no ser un factor a tener en cuenta en la interpretación de los resultados en relación a la ACTH (Donaldson y cols., 2005; Ayala y cols., 2012). Cabe destacar que las concentraciones plasmáticas de ACTH y CORT aumentan de forma proporcional a la edad, sugiriendo alteraciones en la actividad del eje HHA, deterioro inmunitario y mayor susceptibilidad a sufrir patologías como, laminitis (Slater y cols., 1995; Polzer y Slater, 1997; Alford y cols., 2001; Horohov y cols., 2002; Donaldson y cols., 2005; Liburt y cols., 2013).

No debemos obviar el efecto del ejercicio sobre los niveles de ACTH, por tratarse de una condición estresante para el équido (Alexander y cols., 1991; Kurosawa y cols., 1998; Marc y cols., 2000). Aunque la ACTH se incrementa en ejercicios de mediana intensidad y larga duración, doma o salto (Cayado y cols., 2006) para movilizar y utilizar los substratos energéticos necesarios durante las distintas etapas del ejercicio (Alexander y cols., 1991), en caballos entrenados los niveles fueron inferiores ($30,9 \pm 5,1$ pg/ml; Kurosawa y cols., 1998) a los obtenidos en la yegua PRE.

Finalmente, diversas condiciones patológicas como, hipoglucemia (Alexander y cols., 1997; Marc y cols., 2000), laminitis, miositis, artritis, traumatismos y cólico, incrementan la

actividad del eje HHA, asociándose con una mayor liberación de ACTH en respuesta al estrés (Ayala y cols., 2012) y al dolor (Toribio, 2011). La ACTH estimula la corteza adrenal favoreciendo la síntesis de CORT, el cual ejerce una variedad de efectos sistémicos vitales en respuesta a la enfermedad severa, incluyendo el mantenimiento de la presión arterial, el suministro de nutrientes a los tejidos y el control de la respuesta inflamatoria (Hart y cols., 2009). Asimismo, alteraciones gastrointestinales que cursan frecuentemente con liberación de endotoxinas, estimulan la secreción de ACTH por acción directa sobre la hipófisis, e indirectamente sobre la vasopresina (King y Gerring, 1988; Alexander e Irvine, 2002; Whitlock y cols, 2008; Toribio, 2011). No obstante, en équidos con laminitis, cólico y patologías agudas, como artritis y traumatismos se han detectado medias de 64,47 pg/ml, 54,934 pg/ml, y 54,4pg/ml, respectivamente (Ayala y cols., 2012). Aunque no puede precisarse exactamente el origen de las diferencias, en opinión de los autores se sugiere que la gestación influye sobre el patrón de ACTH, ya que se trata de una condición estresante para la yegua. Si bien la placenta secreta CRH para mantener la cortisolemia, necesaria para adaptación metabólica, endocrina e inmune durante la gestación en otras especies (Mastorakos y Ilias, 2003), Fazio y cols. (2009) no revelaron modificaciones en los niveles de ACTH entre yeguas preñadas y estériles.

5.1.2.2.-HORMONA DEL CRECIMIENTO

El valor medio de GH cifrado en $5,67 \pm 7,18$ ng/ml en la yegua PRE fue superior al obtenido en équidos de razas ligeras (Thompson y cols., 1994; Sticker y cols., 1995; Huff y cols., 2010; Valencia y cols., 2013) e inferior al descrito en razas cruzadas (Thompson y cols., 1992). Aunque el sexo se considera uno de los factores que mayormente condiciona el perfil de secreción de GH en sementales y équidos castrados, los pulsos de secreción se incrementan respecto a los presentes en yeguas, sin diferencias estadísticas entre ellos (Thompson y cols., 1992, 1994; Stewart y cols., 1993) por lo que la ausencia de esteroides testiculares no afectaría en principio a la secreción de GH en los castrados. A pesar de ello, la estimulación sexual aumenta la síntesis de GH (Thompson y cols., 1992) vía activación del SNS (Colborn y cols., 1991). De hecho, en sementales la estimulación sexual incrementa 8 a 10 veces los niveles de GH durante la temporada reproductiva (Colborn y cols., 1991).

Las concentraciones plasmáticas de GH e IGF-1 se ven afectadas sensiblemente por la condición corporal y el estado nutricional. De hecho, una buena condición corporal condiciona un descenso de los niveles de GH, lo cual se atribuye al efecto feedback negativo ejercido por

el IGF-1 a través de la somatostatina (Salazar-Ortiz y cols., 2011). Por el contrario, en yeguas delgadas el número de receptores y la síntesis de IGF-1 disminuyen debido a la insulinemia y la ausencia de feedback, favoreciendo el incremento sostenido de GH (Butler y cols., 2003; Salazar-Ortiz y cols., 2014). Estas observaciones ponen de manifiesto que la dieta ejerce un efecto significativo sobre la síntesis de GH. De hecho, una nutrición equilibrada genera niveles hormonales inferiores a los regímenes de restricción alimentaria (Salazar-Ortiz y cols., 2014), estableciéndose una disociación entre la GH y el IGF-1 en condiciones de restricción en la dieta. En esta situación, el descenso de glucosa e insulina estimulan la síntesis de GH, a pesar de la disminución del IGF-1. Se ha documentado que la hipoinsulinemia es la responsable de la pérdida de sensibilidad de los receptores hepáticos a la GH, hecho que justificaría el descenso plasmático de IGF-1 en animales con dietas deficitarias, estableciéndose correlaciones significativas entre dicho factor y las concentraciones de insulina. Asimismo, la reducción en la síntesis de IGF-1 desequilibra el eje somatotrópico, favoreciendo el incremento continuo de GH (Breier, 1999; Butler y cols., 2003; Salazar-Ortiz y cols., 2011). En la yegua PRE, los niveles de GH fueron superiores a los obtenidos en yeguas con restricción proteica en la dieta (Sticker y cols., 1995). Este resultado fue inesperado, ya como se ha descrito previamente, una dieta deficitaria comúnmente eleva la GH. Asimismo, utilizando dietas equilibradas, Thompson y cols. (1994), Huff y cols. (2010) y Valencia y cols. (2013) revelaron niveles de GH que oscilaron entre 2,0 y 4,0 ng/ml. En opinión de los autores, un nivel superior de GH en la yegua PRE podría estar relacionado con la gestación, debido a la estimulación del SNS en respuesta a los cambios hormonales que se producen durante este periodo. Además, el aporte nutricional equilibrado y suficiente en la gestante permite garantizar niveles adecuados de IGF-1, glucosa e insulina y el correcto desarrollo placentario. No obstante, se han descrito medias superiores a las obtenidas en la yegua PRE (Thompson y cols., 1992), tal vez relacionadas con el ayuno, ya que la toma de muestras previa al suministro de alimentos también condiciona elevación de la GH (Sticker y cols., 1995), mientras que el momento de la toma de muestras sanguíneas parece no influir sobre los resultados (Valencia y cols., 2013).

Por otro lado, el avance de la edad condiciona descenso progresivo de los niveles de GH en la mujer (Veldhuis, 2008) asociado con el déficit de secreción del factor hipotalámico de liberación de GH y esteroides sexuales (Skottner, 2012). Stewart y cols. (1993) mostraron niveles basales superiores en potros con edades comprendidas entre 15 días y 4 meses de edad (18-195 ng/ml). La deficiencia de GH en adultos se relaciona con aumento de la grasa corporal, perfiles lipídicos anormales, disminución de la densidad ósea, reducción de la

sensibilidad a la insulina y elevado riesgo a padecer enfermedad cardiovascular. En la yegua PRE el efecto de la edad podría quedar enmascarado debido al amplio rango de edad de las yeguas consideradas en este estudio, describiéndose fluctuaciones comprendidas entre 0,54 y 46,44 ng/ml para este parámetro.

El ejercicio es otro de los factores que influye notablemente sobre la secreción de GH en équidos. Respecto a niveles basales (18,4 ng/ml), el ejercicio agudo incrementa 8 a 10 veces la secreción de GH en sementales (Thompson y cols., 1992). Sin embargo, tras 10 a 20 minutos de ejercicio supera en 25,82 a 32,28 veces el nivel medio obtenido en la yegua PRE. Por el contrario, Thompson y cols. (1994) mostraron que aunque el ejercicio condiciona niveles superiores en machos castrados frente a yeguas y sementales, la amplia variabilidad individual y el escaso número de animales considerados en el estudio no permitieron llegar a conclusiones relevantes. La función que desarrolla la GH durante el ejercicio podría favorecer el aporte energético durante la fase de recuperación induciendo la lipólisis y la síntesis proteica, preservando al mismo tiempo las proteínas presentes en el interior del miocito (Guyton y Hall, 2006; De Graaf-Roelfsema y cols., 2007). Entre los posibles orígenes de dicho incremento se incluyen, la estimulación nerviosa, el feedback ejercido por el IGF-1, la estimulación directa por parte de las catecolaminas (Weltman y cols., 2000), β -endorfinas, lactato y NO, así como alteraciones en el equilibrio ácido-base (Godfrey y cols., 2003).

Aunque el sexo, la condición corporal, la edad y el ejercicio son factores que modifican sensiblemente los niveles de GH, no podemos obviar el efecto que la metodología analítica podría haber condicionado sobre las divergencias entre los resultados de los diversos estudios. De hecho, la existencia de varias isoformas de GH así como el tipo de anticuerpos monoclonales y policlonales dirigidos a epítomos específicos de dichas isoformas, hace que los valores obtenidos en una o en varias muestras puedan presentar variaciones (De Palo y cols., 2006; De Graaf-Roelfsema y cols., 2007). Por otro lado, existen procesos patológicos como la septicemia neonatal en potros que condiciona elevación de GH, sin incremento de IGF-1 (Barsnick y cols., 2010; Toribio, 2011). De hecho, la infusión experimental de endotoxinas en équidos provoca un incremento prolongado de la síntesis de GH (Huff y cols., 2010). Aunque los niveles hormonales no son indicadores de supervivencia, el ratio GH / IGF-1 tiende a ser inferior en aquellos potros que no sobreviven a la patología, lo cual se relaciona con su estado metabólico, caracterizado por hipoglucemia e hipertrigliceridemia (Barsnick y cols., 2014).

5.1.2.2.1.-FACTOR DE CRECIMIENTO SIMILAR A LA INSULINA

Las concentraciones medias de IGF-1 en la yegua PRE fueron similares a las obtenidas en ponis Welsh y yeguas Standardbred y PSI (Malinowski y cols., 1996), superiores a las referidas en yeguas Quarter Horse (Storer y cols., 2007), Haflinger (Deichsel y cols., 2006), miniatura y otras razas equinas (Malinowski y cols., 1996; Gentry y cols., 2002) e inferiores a las descritas en yeguas Shetland y Frisonas (Malinowski y cols., 1996), Standardbred, PSI y árabes (Noble y cols., 2007; Daoud y Ezzo, 2014) y Ardenner (Lejeune y cols., 2007). Existen multitud de factores incluidos la edad, el sexo, la raza, la condición corporal, el estado nutricional, la estacionalidad, la localización geográfica, el momento de la extracción de la muestra, los ritmos circadianos, el ejercicio y el entrenamiento que modifican sensiblemente las concentraciones de IGF-1 en équidos (Malinowski y cols., 1996; Thomas y cols., 1998; Champion y cols., 2002; Noble y cols., 2007; Luszczynski y Pieszka, 2011; Skottner, 2012; Daoud y Ezzo, 2014).

La interpretación del IGF-1 en base a la edad en la yegua PRE resulta controvertida. Así, Champion y cols. (2002) analizaron los niveles de IGF-1 en trotones Standardbred en entrenamiento activo, de ambos sexos y con edades comprendidas entre 1 y 10 años, revelando cifras más elevadas en los potros de 1 año (299,0 ng/ml) que en los de 3 años (240,8 ng/ml). Sobre un total de 1.880 muestras sanguíneas, Noble y cols. (2007) documentaron un descenso de IGF-1 asociado a la edad en yeguas y machos castrados, menos evidente en sementales. En équidos PRE, un estudio previo reveló niveles de IGF-1 superiores en potras y potros de 2-3 meses respecto a los de yeguas y sementales de edades comprendidas entre 1 y 10 años (Riber y cols., 2009). Esta disminución de IGF-1 se ha relacionado con el descenso de la producción de GH con el avance de la edad (Noble y cols., 2007). En el presente estudio se han considerado yeguas con un amplio rango de edad, por lo que en principio las evidencias de Noble y cols. (2007) y Riber y cols. (2009) sobre la reducción de IGF-1 en équidos de edad adulta podría quedar enmascarada. Por el contrario, Lygren y cols. (2014) y Köller y cols. (2016) no revelaron diferencias significativas en équidos con edades comprendidas entre 5 y 27 años, y, 3 y 32, de forma respectiva.

Aunque el sexo es otro de los factores a tener en cuenta en la interpretación de los resultados de los diversos estudios, la evidencia en équidos sanos resulta contradictoria. En la yegua PRE el valor medio de IGF-1 ($270,71 \pm 138,54$ ng/ml) es tres veces inferior al obtenido en PSI (800 ng/ml) (Noble y cols., 2007). Estas diferencias más notables en sementales que en

machos castrados se asocian al efecto estimulador de los andrógenos sobre la síntesis de IGF-1 (Noble y cols., 2007). Asimismo, en trotones Standardbred, Champion y cols. (2002) describieron valores superiores en sementales, sin interacciones entre sexo y edad. En caballos PRE, Riber y cols. (2009) hallaron que los machos con edades comprendidas entre 3 y 6 años poseían concentraciones séricas de IGF-1 superiores a las de las hembras de la misma edad. Por el contrario, Ozawa y cols. (1995) encontraron valores medios de IGF-1 superiores en yeguas frente a los machos.

Los datos medios en el presente estudio fueron similares a los obtenidos en yeguas de diversas razas por Ozawa y cols. (1995), Champion y cols. (2002), Noble y cols. (2007), Muñoz y cols. (2011) y poneis Köller y cols. (2016). En relación a la variedad racial, Ozawa y cols. (1995) compararon las concentraciones de IGF-1 en caballos pesados (Percheron y Breton), PSI y ponis (Shetland y Falabella). A pesar de que el peso corporal y el IGF-1 estuvieron positivamente correlacionados, los niveles medios en caballos pesados no superaron los obtenidos en équidos de razas ligeras (PSI) o poneis. Estos resultados fueron confirmados posteriormente por Daoud y Ezzo (2014) y Abo El-Maaty y cols. (2015). De hecho, Daoud y Ezzo (2014) registraron que aunque la yegua árabe presenta un peso corporal más ligero que la europea, el IGF-1 no varía entre ellas. Por tanto, el papel de la raza quedaría en entredicho. Si bien Muñoz y cols. (2011) reportaron medias que oscilaron entre 60 y 120 ng/ml en équidos PRE, estos valores fueron inferiores a los observados en las yeguas de la misma edad en este estudio. No podemos predecir si estas diferencias pueden estar relacionadas con la metodología laboratorial utilizada para la determinación de IGF-1 y/o con las diferentes variedades raciales, ya que en todos los estudios anteriormente mencionados el IGF-1 se separó de sus proteínas de unión, aunque el procesamiento varió entre ellos. Por tanto, los resultados respecto al IGF-1 deben ser interpretados con precaución.

La nutrición es un factor directamente relacionado con la síntesis de IGF-1. Como se expresó en el apartado de material y métodos, la dieta suministrada a las yeguas gestantes contenía una proporción equilibrada a base de heno de alfalfa y concentrados. Así, Ropp y cols. (2003) no encontraron diferencias en IGF-1 en caballos Cuartos de Milla alimentados con una dieta concentrada rica en carbohidratos fermentables si se agregaba un suplemento del 10% de grasa. Sin embargo, en potros PSI, Treiber y cols. (2005) y Staniar y cols. (2007) determinaron que las concentraciones de IGF-1 se incrementaron en dietas de carbohidratos fermentables frente a la dieta rica en grasa. La influencia de la dieta sobre el IGF-1 podría venir dada por la fuente energética o bien por el patrón de liberación de GH. De hecho, la respuesta

de los receptores hepáticos a la GH está relacionada con los niveles plasmáticos de insulina y glucosa. Así, ante situaciones de restricción alimentaria caracterizadas por hipoinsulinemia e hipoglucemia, los receptores pierden sensibilidad y la síntesis de IGF-1 se reduce (Salazar-Ortiz y cols., 2011). Por este motivo, dietas pobres en energía y/o proteína conllevan menores tasas de secreción del factor (Sticker y cols., 1995; Abo El-Maaty y cols., 2015). Por otro lado, si la privación de alimentos conlleva descenso de IGF-1 (Sticker y cols., 1995), es razonable pensar que los niveles de IGF-1 en yeguas de buena condición corporal se incrementan respecto a los de yeguas delgadas (Gentry y cols., 2002; Salazar-Ortiz y cols., 2011, 2014).

Por otro lado, las condiciones climáticas y el fotoperiodo también influyen sobre el eje somatotrópico, vínculo importante en la regulación energética y metabólica bajo condiciones climáticas diversas. Así, en équidos PSI los niveles de IGF-1 incrementan durante los meses de mayor temperatura y duración de horas de luz (Lejeune y cols., 2007; Staniar y cols., 2007), es decir, durante los meses de primavera-verano (Luszczynski y Pieszka, 2011). Adicionalmente, las diferencias mostradas entre équidos de diferentes localizaciones geográficas parecen estar relacionadas mayormente con los diferentes sistemas de manejo y alimentación (Champion y cols., 2002; Abo El-Maaty y cols., 2015). A diferencia del clima y el fotoperiodo, el IGF-1 no parece verse afectado por el momento del día (Noble y cols., 2007). Por tanto, una única muestra, obtenida en cualquier momento del día, sería una indicación fiable del estado de IGF-1 en el caballo, circunstancia que contrasta con la secreción pulsátil e irregular de la GH. No obstante, Jackson y cols. (2003, a), hallaron una pequeña, aunque significativa influencia de los ritmos circadianos en los niveles de IGF-1 en potras PSI, con un pico a las 17: 30 horas. Por tanto, si el protocolo de toma de muestras siguió un patrón matinal en la yegua PRE, las diferencias entre los resultados podrían quedar enmascaradas.

El ejercicio físico condiciona un aumento de GH e IGF-1 por estimulación directa de las catecolaminas, β -endorfinas, lactato o cambios en el equilibrio ácido-básico (Consitt y cols., 2002). De hecho, la actividad submáxima prolongada de unos 40 min eleva substancialmente el IGF-1, mientras que un ejercicio intenso revierte estos efectos (Jackson y cols., 2003, b). Por el contrario, Noble y cols. (2007) tras un ejercicio de baja intensidad observaron un aumento de GH tras 25 minutos de ejercicio, sin modificaciones en el IGF-1. De la misma forma, ni el ejercicio máximo a lo largo de una distancia de 2.400 metros ni el programa de entrenamiento de 7 semanas de duración e intensidad moderada generó diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de IGF-1 en caballos PSI. En opinión de los autores, estos factores

podrían haber contribuido al menos parcialmente a fomentar las divergencias mostradas entre los diversos estudios.

Finalmente, alteraciones metabólicas asociadas a disfunción de la pars intermedia hipofisaria, síndrome metabólico, hiperlipemia (Muñoz y cols., 2010, b) y tumores ováricos (Daoud y Ezzo, 2014) cursan con un incremento plasmático de IGF-1. Los valores alcanzados en yeguas con tumores ováricos son significativamente superiores a los presentes en otras condiciones reproductivas (cíclicas, preñadas, postparturientas e inactivas) (Daoud y Ezzo, 2014). A nivel local, el IGF-1 está sometido a una regulación autocrina o paracrina (Brokaw y cols., 2007), ejerciendo propiedades mitógenas y antiapoptóticas, lo cual favorece el desarrollo neoplásico (Larsson y cols., 2005). Así, estudios *in vitro* han mostrado que la sobreexpresión del receptor para el IGF-1 puede inducir transformación maligna de las células epiteliales ováricas mediante la modulación de la esteroidogénesis ovárica (Lukanova y cols., 2005). No obstante, patologías articulares como, osteocondrosis y osteoartropatia digital no suelen modificar los niveles de dicho factor (Muñoz y cols., 2010, b).

5.1.3.-HORMONAS PLACENTARIAS

5.1.3.1.-ANDRÓGENOS: ANDROSTENEDIONA, DEHIDROEPIANDROSTERONA Y TESTOSTERONA

En la yegua PRE Las concentraciones de T y sus precursores, DHEA y A₄ oscilaron entre 0,015 y 8,64 ng/ml, 0,91 y 33,39 ng/ml y 0,26 y 11,59 registrándose valores medios de 0,84±1,01 ng/ml, 9,577±6,345 ng/ml y 2,06±1,57 ng/ml, respectivamente. Aunque las cifras de T duplicaron las mostradas previamente por McCue (1998), Howden (2004) y Haffner y cols. (2010), se han descrito medias superiores en otros estudios (Thompson y cols., 1977, Altinsaat y cols., 2009; Frederico y cols., 2007; Soma y cols., 2008; Gee y cols., 2012; Ayala y Martos, 2013; Abo El-Maaty y cols., 2014; Knych y cols., 2015). Diversos factores como, el sexo, la estación reproductiva, el método de determinación hormonal, la edad, el transporte, el comportamiento sexual y la edad modifican de forma fisiológica los niveles de este esteroide. De hecho, la falta de actividad reproductiva en sementales Mongoles se acompaña de valores basales (0,040 ng/ml) de T (Haffner y cols., 2010). Sin embargo, cuando estos animales se destinan a la reproducción mediante cubrición o inseminación en la estación reproductiva, esta hormona experimenta un incremento notable (0,9 a 2,5 ng/ml). Además, dado que la T es un marcador sensible de la función endocrina testicular en sementales, las concentraciones en

machos azoospermicos, castrados e inmaduros (< 15 meses de edad) presentan valores significativamente inferiores a las de sementales maduros y fértiles (Inoue y cols., 1993).

Los niveles medios en la yegua PRE fueron superiores a los presentes en sementales en el mes de diciembre (0,7 ng/ml), aunque inferiores a las obtenidas en el mes agosto (4,1 ng/ml) (Thompson y cols., 1977). Dentro de la temporada reproductiva se describen cifras significativamente superiores (6,58 ng/ml) a las de otros periodos del año (3,64 ng/ml). Este patrón es similar al mostrado en potros menores de 18 meses. De hecho, las máximas concentraciones de T se alcanzan en mayo y en el periodo comprendido entre los meses de agosto y septiembre, en machos y hembras, respectivamente (Górecka-Bruzda y cols., 2015). Igualmente, se han detectado concentraciones de $1,08 \pm 0,078$ y $0,65 \pm 0,11$ ng/ml en los periodos mayo-junio y, noviembre-diciembre, respectivamente (Altinsaat y cols., 2009; Saad y cols., 2011). Las divergencias entre los resultados de estas últimas investigaciones y la yegua PRE podrían estar relacionados con el sexo y la estacionalidad. De hecho, los dos últimos estudios fueron realizados en sementales árabes. Además, en el Hemisferio Norte la estación de cría natural se produce entre los meses de abril y septiembre (Nagy y cols., 2000), de forma que la eficiencia reproductiva y los niveles de T se incrementan durante este periodo, respecto a otras etapas del año (Todini y cols., 2007; Saad y cols., 2011). Aparte de la función testicular (Boyd y cols., 2006), esta elevación de T durante la estación de cría se ha relacionado con la disminución del efecto inhibitorio de la melatonina sobre la GnRH (Altinsaat y cols., 2009). Por tanto, el fotoperiodo y el momento del año son factores que alteran sustancialmente los niveles de andrógenos en équidos, hecho que por el programa de muestreo utilizado en la yegua PRE, no hemos podido documentar en el presente estudio, ya que la edad no parece modificar los niveles de T en sementales y yeguas PRE (Ayala y Martos, 2013).

En équidos, la edad condiciona elevación de los niveles de T, como se ha documentando en caballos salvajes (Khalil y cols., 1998) y árabes (Abo El-Maaty y cols., 2014). Este aumento plasmático, que también se produce en los niveles intratesticulares (Almahbobi y cols., 1988; Stewart y Roser., 1998) se ha relacionado con el incremento de células de Leydig. De hecho, en los animales de 20 años, el volumen y número de células de Leydig llega a triplicarse frente al presente en animales de 2 años edad (Berndtson y cols., 1989). Por el contrario, en sementales PSI los niveles de T no se modifican respecto a la edad o a la temporada reproductiva (Raeside y cols., 2008). En todos estos últimos estudios las concentraciones de T fueron notablemente superiores a las obtenidas en la yegua PRE,

volviendo a subrayar el efecto del sexo sobre los resultados, ya que la edad no es un factor que se haya considerado en la presente investigación.

Los esteroides anabolizantes como el stanozolol y la boldenona son derivados sintéticos de la T. Este tipo de sustancias se ha empleado en animales debilitados para reconstruir los tejidos alterados debido a enfermedades, lesiones o tras cirugía, aumentar la masa muscular, favorecer el crecimiento óseo, estimular la eritropoyesis, la sensación de bienestar y el apetito (Pitt y Davis, 2007). En caballos de deporte, el uso de estas sustancias representa una forma de optimizar la velocidad y ganar la competición. Para garantizar la ética en la actividad deportiva y evitar el dopaje, esta práctica está sometida a riguroso control legal. Aunque la DHEA no está específicamente prohibida y no existe límite de detección o umbral de concentración plasmática, la capacidad de conversión de DHEA en T hace que su presencia en suplementos nutricionales sea una preocupación constante. Los límites de detección y confirmación para T libre tanto en yeguas como caballos castrados deben ser inferiores a 0,1 y 0,025 ng/ml, respectivamente. Actualmente, se realizó un ensayo con 8 yeguas PSI para evaluar el efecto de la administración oral de un suplemento nutricional enriquecido con DHEA, detectándose elevación de las concentraciones plasmáticas ($52,0 \pm 43,8$ ng/ml) de este precursor, sin modificaciones en los niveles de T ($0,98 \pm 1,09$ ng/ml; Knych y cols., 2015). Aunque el tratamiento eleva la DHEA a niveles superiores a los obtenidos en la yegua PRE, este tipo de productos comerciales a las dosis recomendadas no modifica las cifras de T, descartando los posibles efectos adversos de dicho esteroide sobre el crecimiento o fertilidad. No obstante, Soma y cols. (2008) mostraron que las concentraciones de T en sementales de deporte disminuyen frente a la de animales no entrenados o ejercitados. Se ha hipotetizado que quizás la supresión hormonal endógena esté relacionada con la administración de esteroides anabolizantes, la falta de estimulación y el ejercicio (Soma y cols., 2007).

Por el contrario, se ha sugerido que los caballos de razas más primitivas pueden diferir en el nivel de esteroides sexuales de otras razas equinas (Haffner y cols., 2010). De hecho, en équidos salvajes de raza Konik Polski durante el periodo de desarrollo, las bajas concentraciones de T contrastan con las de adultos. La formación de un harén por parte del semental conlleva un periodo de 3 años, de forma que el éxito para la consolidación del grupo se correlaciona con los niveles de T. En grandes agrupaciones de sementales, como sucede en los depósitos de sementales, el nivel de T varía según el rango social masculino, siendo más alto en la mayoría de machos dominantes (McDonnell, 2000). Sin embargo, incluso si el semental tiene la oportunidad de reproducirse, el nivel de T es menor en los jóvenes que en

los seniles (Górecka-Bruzda y cols., 2015). Se desconoce si las elevadas concentraciones de T predestinan a los sementales a un comportamiento más masculino o agresivo para la formación del harén, o es debido a la mayor oportunidad para el cruzamiento (Khalil y cols., 1998). Adicionalmente, Górecka-Bruzda y cols. (2015) mostraron niveles de T significativamente superiores en potros a los 18 meses, frente a los 12 meses de edad, ya que el nadir se alcanza durante las primeras fases del desarrollo (6-9 meses).

Aunque las concentraciones medias A_4 en la yegua PRE cuatriplican los resultados obtenidos por Haffner y cols. (2010) en yeguas Mongolas, se han descrito medias superiores para DHEA y A_4 en équidos PRE (Ayala y Martos, 2013), quedando en todos los casos dentro del rango de referencia para équidos adultos sanos. Cabe reseñar que la metodología analítica en el último estudio fue la misma que la empleada en la presente investigación, por lo que las divergencias entre los resultados respecto a estos precursores androgénicos podrían estar relacionadas con la edad y la estación reproductiva. Al igual que sucede con la T, el nadir para las concentraciones de A_4 se mantiene entre los 6 y 9 meses, aumenta abruptamente a los 12 meses y permanecen significativamente elevadas hasta los 18 meses de edad (Górecka-Bruzda y cols., 2015). Por el contrario, en mujeres (Davison y cols., 2005) y animales de experimentación (Takeshita y cols., 2013) la pérdida de funcionalidad ovárica o de masa reticular adrenal podrían estar relacionadas con el declive de A_4 que se manifiesta con el avance de la edad (Davison y cols., 2005). A pesar de ello, Hodgson y Braunstein (2007) no contemplaron estas evidencias, ya que las células tecales continúan secretando A_4 tras la menopausia en la mujer.

Sin embargo, las concentraciones de T en la yegua PRE fueron inferiores a las mostradas por Ayala y Martos (2013) en yeguas de la misma raza. Cabe destacar que en patologías como, laminitis, síndrome abdominal agudo, enfermedad crónica o castración, la T se incrementa sensiblemente en respuesta a los andrógenos suprarrenales bajo la influencia del estrés. Aunque el estrés mediado por la ADR circulante puede alterar las concentraciones plasmáticas de T, la relación entre ambos necesita aclaración (Elman y cols., 2001; Ayala y Martos, 2013). A pesar de ello, el transporte de larga distancia en sementales Shetland provoca una respuesta al estrés, similar a la inducida con el tratamiento con ACTH, aunque las concentraciones de T no se modifican (Deichsel y cols., 2015). Sin embargo, la administración de dexametasona en la yegua suprime completamente la secreción de T y, en parte, la A_4 , inhibiendo al mismo tiempo, el comportamiento de celo (Pope y cols., 1995). En patologías agudas el incremento de la expresión de la enzima P450arom, resulta en una mayor

aromatización de andrógenos a estrógenos, aumento del aclaramiento y disminución de la producción de T (Spratt y cols., 2006) y DHEA (Garey y cols., 2010) en presencia de citoquinas y CORT circulantes. Asimismo, en seres humanos, el tratamiento continuado con corticoides o la presencia de enfermedades crónicas, hipopituitarismo, enfermedad de Addison, fallo ovárico premenopáusico u ovariectomía, se asocian con déficits de andrógenos (Burger, 2002; Davis y Burger, 2003). No obstante, aunque algunas situaciones de estrés agudo (Morgan y cols., 2004) y estímulos nociceptivos (Craft y cols., 2004) incrementan la DHEA y la T, respectivamente, en enfermedades graves y tras cirugías la T desciende (Spratt y cols., 1993; Fourrier y cols., 1994). Finalmente, una de las patologías más frecuentes en la yegua respecto a la dinámica androgénica es el tumor de células de la granulosa (TCG). Se han reportado cifras medias de T que oscilan entre 1,150 pg/ml (Gee y cols., 2012) y 681,5 pg/ml (Frederico y cols., 2007) en una yegua PSI y árabe, respectivamente. El TCG es la neoplasia germinal más común en el ovario de la yegua. En el 50% de las yeguas afectadas, el TCG contiene células tecales que elevan marcadamente la producción de T, de forma que las yeguas afectadas suelen presentar ninfomanía, virilismo, agresividad o anestro (Chopin y cols., 2002; Schlafer y Miller 2007, Lima y cols., 2011; Gee y cols., 2012).

5.1.3.2.-SULFATO DE ESTRONA Y PROGESTERONA

Por la importancia que ejercen la P₄ ovárica y la E₁S placentaria durante la gestación en la yegua, los resultados obtenidos para estas hormonas serán discutidos en el siguiente apartado.

5.1.4.-FACTOR DE CRECIMIENTO PLACENTARIO

La placenta contribuye al crecimiento fetal de tres formas diferentes, aportando nutrientes y oxígeno, regulando la difusión a la circulación materna de los productos procedentes del metabolismo fetal y actuando como un auténtico órgano endocrino con repercusiones sobre el metabolismo materno y fetal. El crecimiento intrauterino es un proceso complejo en virtud del cual un adecuado aporte de nutrientes, su óptima utilización por parte del embrión y feto, así como la correcta expresión de los factores de crecimiento tisulares garantizan el adecuado desarrollo y crecimiento fetal (Joó y cols, 2016). Hechos biológicos como la implantación, placentación y desarrollo del lecho vascular uteroplacentario,

constituyen aspectos transcendentales para atender las demandas ante el feto en crecimiento. La oxigenación intraútero es esencial para el desarrollo fetal y está directamente relacionada con la capacidad de difusión del oxígeno y con el flujo placentario. Así, la reducción del aporte de oxígeno y nutrientes al feto limita su capacidad de crecimiento y altera la secreción hormonal, conduciendo al retraso en el crecimiento intrauterino, pérdidas embrionarias tempranas o abortos (Wilsher y Allen, 2012).

El PIGF es un potente agente angiogénico que contribuye a la proliferación trofoblástica normal y la implantación (Joó y cols, 2016). En la yegua PRE se han detectado concentraciones que oscilan entre 31,70 y 223,60 ng/ml, registrándose un valor medio de $57,64 \pm 18,05$ ng/ml. Según la bibliografía consultada no existen datos de referencia en la especie equina, de forma que estos autores carecen de información suficiente para contrastar objetivamente los datos obtenidos, ni la influencia de factores como la edad, el número de partos, la presencia de patologías placentarias o alteraciones en el desarrollo fetal, entre otros. No obstante, en mujeres gestantes se han detectado concentraciones plasmáticas inferiores a las de la yegua PRE, que fluctúan entre 0,04 ng/ml (Romero y cols., 2008) y 0,37 ng/ml (Bottomley y cols., 2000), no evidenciándose variaciones significativas en relación a la edad (Gruson y cols., 2013) o al peso materno (Cowans y cols., 2010). Sin embargo, los niveles de PIGF se incrementan en los dos primeros trimestres y descienden en último periodo de gestación con el avance de la edad de la madre. Aunque en mujeres pluríparas, el PIGF presenta cifras significativamente superiores a las de mujeres nulíparas (Tsiakkas y cols., 2015), no todos los autores confirman estas evidencias (Saffer y cols., 2013). Los datos aportados en esta última investigación han revelado que la distribución de PIGF es débilmente dependiente de la edad materna, raza / etnia y paridad (Saffer y cols., 2013).

Por tratarse de una proteína angiogénica que se expresa en el tejido trofoblástico, sus concentraciones aumentan sensiblemente durante la gestación ($1,00 \pm 0,26$ ng/ml), favoreciendo la angiogénesis y vasculogénesis placentarias (Krauss y cols., 2004; Romero y cols., 2008). Por el contrario, valores disminuidos durante el primer y segundo trimestre de gestación ($0,69 \pm 0,23$ ng/ml) se han relacionado con preeclampsia, insuficiencia placentaria, restricción del crecimiento intrauterino y nacimiento de fetos de pequeño tamaño para su edad gestacional (Livingston y cols., 2000; Tidwell y cols., 2001; Romero y cols., 2008; Chappell y cols., 2013; Vrachnis y cols., 2013; Li y cols., 2016).

Por otro lado, las modificaciones que se producen en los factores angiogénicos circulantes desempeñan un papel importante en la patogénesis de la preeclampsia. La hipoxia resultante de la inadecuada perfusión uterina estimula la liberación de una proteína soluble de la tirosina quinasa 1 (sFlt-1 o sVEGFR-1), que actúa como antagonista del PlGF, causando daño endotelial materno y restricción del crecimiento placentario. La sFlt-1 se adhiere al dominio del receptor para PlGF, impidiendo su interacción con los receptores de membrana de las células endoteliales, provocando disfunción endotelial (Chappell y cols., 2013; Odibo y cols., 2014; Bahlmann y Naimi, 2016; Rădulescu y cols., 2016).

5.1.5.-HORMONAS ADRENALES

5.1.5.1.-CORTISOL

La secreción de hormonas placentarias con efectos anabólicos es enormemente importante para compensar el coste energético que la gestación y el crecimiento fetal representan. Los niveles séricos de CORT para la totalidad de las yeguas del estudio fluctuaron entre 4,21 y 705,32 ng/ml, detectándose un valor medio de $54,34 \pm 51,18$ ng/ml. Aunque este valor medio estuvo comprendido dentro del rango fisiológico descrito para animales adultos sanos de diversas razas equinas como, Quarter Horse, PSI, Palomino y Tennessee Walking (Place y cols., 2010), Mongolian (Haffner y cols., 2010), caballos cruzados (Mircean y cols., 2007, Haritou y cols., 2008, Valencia y cols., 2013), fue similar al obtenido en yeguas Standardbred (Hedberg y cols., 2007,a) y superior al descrito en Standardbred, Icelandic, PSI, árabes y otras razas equinas (Larsson y cols., 1979; Kurosawa y cols., 1998; Hemmann y cols., 2012; Abo El-Maaty y cols., 2012; Ayala y cols., 2012; Söder y cols., 2012).

La especie equina es altamente sensible al estrés, factor que podría justificar parcialmente las divergencias existentes entre los resultados de las diversas investigaciones. Aunque la respuesta aguda al estrés induce generalmente una marcada cortisolemia, determinadas situaciones de estrés crónico pueden elevar o disminuir los niveles de CORT dependiendo del estímulo (Ayala y cols., 2012). Así, ante situaciones fisiológicas como, ejercicio (Gordon y cols., 2007), transporte (Baucus y cols., 1990), dolor (Merl y cols., 2000), el destete (Erber y cols., 2012), excitación sexual (Colborn y cols., 1991) y estrés social (Alexander e Irvine, 1998) o ambiental (Cordero y cols. 2012) se estimula la secreción de CORT. La elevación de la cortisolemia va encaminada a mantener la homeostasis orgánica (Mills y cols., 1997; Ayala y cols., 2012). No obstante, estas circunstancias mantenidas durante largos

periodos de tiempo pueden provocar efectos detrimentales como, agotamiento muscular, hipertensión, alteraciones inmunológicas y reproductivas (Martos y Ayala, 2003). Asimismo, diversas patologías como, septicemia neonatal, laminitis y síndrome abdominal agudo se asocian con elevación sérica de CORT (Gold y cols., 2007; Hurcombe y cols., 2008; Ayala y cols., 2012), correlacionándose positivamente con la gravedad (Ayala y cols., 2012) y negativamente con la tasa de supervivencia del paciente (Niisnisto y cols., 2010; Toribio, 2011).

En la bibliografía se ha documentado ampliamente que el CORT en équidos sigue un ritmo circadiano de secreción (Irvine y Alexander, 1994), con valores máximos matinales y mínimos durante la tarde (Irvine y Alexander, 1994; Hemmann y cols., 2012; Cordero y cols., 2012; Valencia y cols., 2013), si bien esta idea no es defendida por todos los autores (Hoffsis y cols., 1970; Haritou y cols., 2008). El ritmo circadiano hace que el animal sea susceptible a la influencia de diversos factores que incluyen la edad, variaciones estacionales, raza, manejo, estabulación, alimentación y luminosidad, entre otros (Irvine y Alexander, 1994; Widman, 2010; Cordero y cols., 2012, Soder y cols., 2012). Aunque el avance de la edad incrementa la secreción de CORT, disminuye la amplitud del ritmo circadiano y altera la funcionalidad del eje HHA (Horohov y cols., 2002; Donaldson y cols., 2005; Malinowski y cols., 2006), no todas las investigaciones lo confirman (Fazio y cols., 2008, 2009; Ayala y cols., 2012; Liburt y cols., 2013). Por otro lado, se han establecido diferencias genéticas entre animales de distintas razas en relación a los patrones de secreción de CORT (Soder y cols., 2012). Asimismo, los niveles de CORT en yeguas estabuladas son superiores a las que habitan en praderas (Haupt y cols., 2001; Harewood y McGowan, 2005), si bien, los diferentes regímenes de alimentación (Stull y Rodiek, 1988; Storer y cols., 2007; Widman, 2010) así como el sexo (Ayala y cols., 2012) no parecen influir sobre la cortisolemia basal en équidos.

El patrón estacional respecto a la cortisolemia en équidos está sujeto a evidencias contradictorias. Así, mientras que Colborn y cols. (1991), Fazio cols. (2009) y Cordero y cols. (2012) mostraron un patrón circannual con niveles máximos en primavera, Haritou y cols. (2008) y Place y cols. (2010) no revelaron modificaciones. El estrés asociado al comportamiento de celo o las cubriciones así como la lactación parecen ser las causas de dichas acrofases primaverales en yeguas vacías (Gill y Kownacka, 1979; Gill y cols., 1985) y gestantes (Flisinska-Bojanowska y cols., 1991, b), si bien, los perfiles de ACTH y CORT no siguen un patrón sincrónico (Cordero y cols., 2012). Esta disincronía se atribuye a alteraciones en la sensibilidad adrenal, cambios en el metabolismo del CORT o variaciones estacionales en la bioactividad de la ACTH (Cordero y cols., 2012). En la yegua PRE se establece una relación

inversa entre ambos parámetros ($r=-0,01$), lo cual podría explicarse por el efecto feedback negativo ejercido por el CORT sobre la secreción de CRH y ACTH a nivel hipotalámico e hipofisario, respectivamente (Martin y Crump, 2003). En la mujer (Carr y cols., 1981) y la oveja (Bell y cols., 1991; Keller-Wood y Wood, 2008) este mecanismo parece alterarse durante la gestación, ya que la elevada cortisolemia no impide el incremento continuo de ACTH (Lindsay y Nieman., 2005). No obstante, el ritmo circadiano de CORT queda enmascarado durante la segunda mitad de la preñez (Flisinska-Bojanowska y cols., 1989, 1991, b; Satué y cols., 2007; Fazio y cols., 2009), atribuyéndose a las interrelaciones hormonales acontecidas durante dicho periodo (Gill y cols., 1994; Satué y cols., 2011).

Como resumen de este apartado y en base a los resultados obtenidos se puede concluir que con ligeras variaciones, las concentraciones séricas de hormonas hipofisarias (ACTH y GH) e IGF-1, placentarias (andrógenos) y adrenales (CORT) han quedado comprendidas dentro de los rangos de referencias establecidos para équidos adultos sanos y yeguas gestantes de otras razas equinas. Con carácter excepcional, se han descrito por primera vez valores de referencia en los niveles séricos de neurotransmisores (ADR, NORADR, 5-HT y DA) y PIGF en yeguas PRE gestantes fisiológicamente normales.

5.2.-EVOLUCIÓN DE LOS NEUROTRANSMISORES, HORMONAS HIPOFISARIAS, PLACENTARIAS, ADRENALES Y FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA YEGUA PRE DURANTE LA GESTACIÓN

Para garantizar el éxito en la gestación es imprescindible el correcto desarrollo y funcionalidad placentaria. La placenta es el órgano a través del cual se produce la transferencia efectiva de nutrientes (ácidos grasos, aminoácidos, oxígeno o glucosa, entre otros), el intercambio gaseoso y la eliminación de productos de desecho entre la madre y el feto, favoreciendo al mismo tiempo el correcto crecimiento y desarrollo fetal. Los componentes del eje somatotropo, GH e IGF-1, influyen notablemente sobre el crecimiento, diferenciación y supervivencia del embrión (Drakakis y cols., 1995; Pozzobon y cols., 2005), actividad invasiva del trofoblasto (Lacroix y cols., 2005), hipertrofia endometrial (Oliveira y cols., 2008; Hull y Harvey, 2014) y la actividad mitógena placentaria, incrementando la superficie de intercambio maternofetal (Hull y Harvey, 2001; Chellakooty y cols., 2004). Este aumento en el tamaño placentario está asociado con una serie de mecanismos adaptativos angiogénicos que incluyen, vasodilatación, aumento de permeabilidad, crecimiento y desarrollo de la vasculatura, orientados a favorecer el aporte sanguíneo (Gourvas y cols., 2012). Dentro de los

factores angiogénicos destaca el PIGF, que controla el crecimiento y la diferenciación del trofoblasto y, por consiguiente, la invasión de la decidua en el lecho materno (De Falco, 2012). No obstante, los estudios en la especie equina son escasos y fragmentarios, centrándose mayoritariamente en el VEGF-A. En la mujer y en animales de experimentación, el PIGF y sus receptores regulan la angiogénesis y vasodilatación necesarios para asegurar el correcto aporte sanguíneo al feto, correlacionándose directamente con el crecimiento fetal y el grado de supervivencia del neonato (Krauss y cols., 2004; Romero y cols., 2008). Una vez formada la placenta, la secreción de andrógenos, estrógenos y P₄ garantizan la implantación, mantenimiento de la gestación y el apropiado metabolismo materno y fetal (Carter, 2012). Las catecolaminas, el CORT y la ACTH regulan funciones como el tono muscular liso, la presión arterial, el metabolismo de los carbohidratos y lípidos (aumento de la glucemia y ácidos grasos libres), la termorregulación y la secreción de diversas hormonas (Barta y Drugan, 2010). Este estudio permitirá analizar las fluctuaciones y las interrelaciones fisiológicas entre los factores de crecimiento, hormonas hipofisarias, placentarias y adrenales anteriormente descritos en la yegua PRE, para posteriormente poder ser aplicados a modelos gestacionales patológicos, que podrían cursar con infertilidad, pérdidas embrionarias, abortos y/o placentitis.

5.2.1.-NEUROTRANSMISORES

5.2.1.1.-ADRENALINA Y NORADRENALINA

El nivel medio de ADR incrementó significativamente en el segundo mes de gestación, descendiendo de forma progresiva a partir del 3º mes hasta el final de la preñez. Por el contrario, la NORADR mostró dos picos de secreción máxima, el primero de ellos en el tercer mes y el segundo en el 8º mes de gestación, con cifras significativamente superiores en este último. Estas concentraciones medias en la yegua PRE fueron superiores a las obtenidas en pones durante el mismo periodo del ciclo reproductivo (Silver y Fowden, 1995; Giussani y cols., 2005). Las diferencias entre los resultados podrían estar relacionadas con el método analítico, ya que mientras Silver y Fowden (1995) y Giussani y cols. (2005) emplearon ELISA, en este estudio las catecolaminas fueron determinadas mediante un método EIA de competición con extracción previa de la muestra validado específicamente para la especie equina.

La dinámica de las catecolaminas en la yegua PRE contrasta con la descrita previamente en la mujer y en animales de experimentación. De hecho, en estas últimas especies ambas catecolaminas disminuyen significativamente tanto en plasma como en líquido

cefalorraquideo con el avance de la gestación (Natrajan y cols., 1982; de Weerth y Buitelaar, 2005; Altemus y cols., 2004; Hellgren, 2013), si bien, Li y cols. (1999) no revelaron modificaciones en la ADR. Aunque los mecanismos fisiológicos relacionados con el descenso de ambas catecolaminas permanecen desconocidos, se ha sugerido que la hemodilución secundaria a la expansión del volumen plasmático y el mayor grado de aclaramiento metabólico podrían ser causas potenciales de dichas variaciones (Natrajan y cols., 1982). Al inicio de la gestación se produce un descenso del tono vascular sistémico y de la sensibilidad α -adrenérgica, necesarios para la expansión del volumen plasmático, cuyo incremento se estima aproximadamente en el 50%, en la mujer (Wedel Jones y cols., 2009). Dichas modificaciones se hacen necesarias para acomodar el mayor contenido uterino, aumentar la biodisponibilidad de nutrientes necesarios para el correcto desarrollo fetal y eliminar los productos de desecho procedentes del metabolismo fetal (Sibai y Frangieh, 1995; Satué y Domingo, 2011).

En etapas tempranas de la gestación ambas catecolaminas intervienen en procesos básicos del desarrollo como, embriogénesis, morfogénesis, regulando funciones importantes como, la proliferación, diferenciación y migración celular (Herlenius y Lagercrantz, 2001; Cikos y cols., 2007). En animales de experimentación las catecolaminas y sus receptores adrenérgicos están presentes a edades muy tempranas del desarrollo embrionario, detectándose incluso antes de la implantación. En seres humanos, los cuerpos neuronales inmaduros expresan la enzima TH, encargada de la síntesis de catecolaminas a las 4 semanas de gestación. No obstante, la presencia de NORADR es algo más tardía, evidenciándose en el tejido cerebral y la médula espinal a las 5-6 semanas. De la misma forma, en el fluido oviductal se han detectado niveles variables de ADR y NORADR, de procedencia nerviosa, circulante o embrionaria (Cikos y cols., 2007). Estas evidencias son sumamente importantes para asegurar el desarrollo del embrión y el feto, ya que la incapacidad de ambos para sintetizar estas moléculas intraútero conlleva a la muerte embrionaria o neonatal temprana, comúnmente acompañada de alteraciones cardiovasculares (Zhou y cols., 1995; Cikos y cols., 2007). Estos mecanismos permanecen desconocidos hasta la actualidad en la yegua, de forma que en un futuro sería interesante valorar la respuesta circulante y endometrial de las catecolaminas ante la presencia intrauterina del embrión y/o feto, para posteriormente, poder ser aplicadas a gestaciones patológicas que cursan con reabsorciones embrionarias o abortos.

Algunos estudios han destacado el papel estimulador de las catecolaminas sobre la secreción de P_4 y E_2 (Barnea y cols., 1989), y, que los adrenoreceptores se encuentran bajo control de las hormonas esteroideas (Saarikoski, 1988). Este mecanismo de control implica la

estimulación de la secreción de P_4 , por parte de la NORADR y la génesis de AMPc y síntesis de estradiol en respuesta a la ADR. Estos incrementos se cifran en un 25% para la P_4 y un 30% para el estradiol, respectivamente (Saarikoski, 1988). El sistema noradrenérgico actúa como un factor luteotrópico reforzando la funcionalidad del CL y la secreción de P_4 en vacas. Por tanto, la síntesis de NORADR por parte del CL constituye un mecanismo de protección eficaz frente a los efectos del estrés sobre la actividad luteal, hecho especialmente importante en el mantenimiento de la gestación en esta especie (Kotwica y cols., 1996; Kotwica y Bagacki, 1999). Aunque esta observación previa en la vaca podría ser el origen del incremento de NORADR durante el 2º y 3º mes de gestación en la yegua PRE, las correlaciones obtenidas entre ambos parámetros ($r_{\text{NORADR-P}_4}=0,04$) así como la ausencia de correlaciones entre las concentraciones de ambas catecolaminas y el E_1S indican que las modificaciones de estas moléculas son independientes de la dinámica hormonal de ambos esteroides, por lo que en el origen de dichos cambios deberían considerarse otras hormonas o incluso factores biológicos de naturaleza no hormonal durante la preñez. Tal vez, la presencia intraútero del embrión o feto podría justificar el incremento materno de esta catecolamina, aunque se necesitarían futuros estudios para dilucidar estos hechos.

Por otro lado, las catecolaminas originadas en el feto podrían haber contribuido a acrecentar los niveles maternos. De hecho, en animales de experimentación dichos neurotransmisores se transfieren vía transplacentaria (Herlenius y Lagercrantz, 2001; Portbury y cols., 2003), si bien, algunos investigadores han revelado que el tipo de placenta existente en la yegua podría inactivar (Fowden y Forhead, 2004; Fowden y cols., 2006), o bien modificar la permeabilidad de dichas sustancias. En ovejas gestantes, la infusión experimental de ADR provoca alteración transitoria de permeabilidad de la barrera placentaria, detectándose en el feto (Gu y Jones, 1986; Rakers y cols., 2015). No obstante, aunque en la mujer la NORADR modifica sensiblemente el ambiente uterino, no es transferida vía placentaria (Giannakoulopoulos y cols., 1999).

La presión arterial, el flujo sanguíneo y las concentraciones de NORADR y ADR aumentan en el feto equino con el avance de la gestación hasta término, si bien, la elevación más abrupta muestra una asociación estrecha y temporal con el pico de CORT preparto (Giussani y cols., 2005). Esta respuesta podría estar relacionada con la madurez orgánica fetal y la implicación noradrenérgica a nivel cardiovascular (Forhead y cols., 2000), favoreciendo la perfusión del lecho vascular fetal y el mantenimiento del flujo sanguíneo placentario. Esta respuesta garantiza un mayor intercambio de oxígeno y nutrientes para satisfacer las

demandas fetales. No obstante, aunque la NORADR es la amina predominante en el feto equino, tras el nacimiento la ADR se incrementa en el neonato, estableciéndose una correlación positiva con la cortisolemia previa al parto (Silver, 1984). Por el contrario, en diversas especies, la enzima placentaria 11β -HSD inactiva los glucocorticoides, limitando la exposición fetoplacentaria a los elevados niveles de glucocorticoides maternos durante la gestación (Seckl y Meaney, 2004). Este efecto protector para el feto podría estar asociado al mismo tiempo, con la reducción de la respuesta al estrés en la yegua durante la gestación. En relación a estos acontecimientos, Tischner y cols. (2006) mostraron reducción de actividad en los sistemas SA e HHA durante el transporte en yeguas preñadas frente a ingravidas, sugiriendo la existencia de mecanismos defensores frente a factores estresantes para el feto (de Weerth y Buitelaar, 2005).

La evolución mostrada por la ADR y NORADR en la yegua PRE podría reflejar la actividad de las catecolaminas en la modulación de los sistemas cardiovascular, metabolismo energético y endocrinológico durante la gestación, ya que la estimulación adrenérgica regula el flujo sanguíneo y la circulación placentaria (Wang y cols., 2002). Estas fluctuaciones similares de la NORADR en la mujer se relacionan con el aumento de actividad del SNS, y éste a su vez con el perfil endocrino dominante durante este periodo (Parvez y cols., 1973). De hecho, el CORT actúa de forma paracrina sobre la síntesis de catecolaminas a nivel de la médula adrenal regulando la actividad de la PNMT, enzima encargada de la conversión de NORADR en ADR (Silver, 1984; Axelrod y Reisine, 1984). En la yegua PRE, la ausencia de correlaciones entre la ADR y NORADR ($r=0,05$) podría indicar que los mecanismos que ponen en marcha la síntesis y secreción de ambas catecolaminas actúan de forma independiente. Además, aunque el CORT es la hormona relacionada con el pico de catecolaminas, las correlaciones encontradas entre el CORT y la ADR ($r=0,04$) y el CORT y la NORADR ($r=-0,02$) no han podido explicar hechos fisiológicos basados en la influencia del CORT sobre la síntesis de ADR a partir de la NORADR durante la gestación en la yegua PRE.

Hacia el momento del parto, la vasoconstricción uterina está modulada por el incremento materno de dichas catecolaminas, si bien, en la mujer, Segal y Wang (2008) no evidenciaron modificaciones durante la gestación. De hecho, los valores gestacionales de ADR y NORADR, que normalmente no superan 50 pg/ml y 200 pg/ml, aumentan de forma significativa a 300 pg/ml y 1.100 pg/ml hacia el momento del parto, respectivamente (Lederman y cols., 1985). En la yegua, Nagel y cols. (2014) mostraron que el parto está bajo control parasimpático, a pesar de las fluctuaciones significativas en la ADR y NORADR a partir

de la ruptura del alantocorion hasta la expulsión de las membranas fetales. La ADR se libera a partir de la glándula suprarrenal, mientras que la NORADR y la DA son mayoritariamente secretadas al torrente circulatorio como resultado de la sobreestimulación de las terminaciones nerviosas adrenérgicas y dopaminérgicas y, en menor medida, tras la estimulación de la glándula adrenal. Los mecanismos que relacionan los niveles de catecolaminas con el parto pretérmino pueden ser indirectos, ya que estos neurotransmisores alteran la constricción / dilatación de los vasos sanguíneos, la movilización de ácidos grasos, y la secreción de insulina (Young y Landsberg, 1998). Directamente, las catecolaminas pueden incrementar las contracciones uterinas mediante la unión a los receptores adrenérgicos uterinos α_1 (contracción) y β_2 (relajación), la activación de los receptores para la oxitocina (Engstrom y cols., 1999) y el aumento de la producción de PG en el amnios, decidua y miometrio (Tada y cols., 1991). De hecho, la administración de NORADR y DA en mujeres gestantes a término induce aumento de la contractilidad uterina (Urban y cols., 1982). Los agonistas de los receptores β_2 -adrenérgicos suelen utilizarse para evitar el parto prematuro, aunque sólo retrasan el parto alrededor de 48 horas, demostrando la falta de eficacia (Anotayanonth y cols., 2004). En yeguas, la aplicación de este tipo de terapias conlleva al descenso de actividad de los receptores β_2 , acompañado de atonía uterina (Nagel y cols., 2014). La falta de sincronía entre liberación y regulación de los receptores adrenérgicos uterinos en respuesta al estrés podría aumentarse con el estrés / excitación crónica o en hembras con elevada predisposición genética a la activación simpática (Holzman y cols., 2009). Por tanto, el aumento del tono vascular sistémico y la sensibilidad α adrenérgica pueden condicionar procesos patológicos como, hipertensión o restricción de crecimiento fetal intrauterino (Alexander y cols., 2001; Wedel Jones y cols., 2009). En mujeres hipertensas las concentraciones plasmáticas de catecolaminas han mostrado resultados contradictorios detectándose, elevaciones (Khatun y cols., 1996; Hernández-Valencia y cols., 2007) o descensos (Tunbridge y Donnai, 1981; Natrajan y cols., 1982) durante la preñez. En ovejas, la ADR y la NORADR aumentan en modelos experimentales de retraso en el crecimiento intrauterino e hipoxemia fetal. Estos cambios juegan un papel crucial en los procesos adaptativos al ambiente uterino hipóxico y la menor disponibilidad de sustratos metabólicos (Bassett y Hanson, 1998). De hecho, la infusión experimental de catecolaminas en fetos ovinos inhibe prolongadamente la liberación de insulina, dando lugar a la elevación de la glucosa en un ambiente uterino hipóxico. Adicionalmente, la elevación de catecolaminas circulantes se relaciona estrechamente con la mayor incidencia de partos prematuros (Holzman y cols., 2009)

y disminución de peso al nacimiento (Field y cols., 2006), en respuesta a infecciones agudas o patologías vasculares.

Finalmente, en la mujer, existe mayor tendencia al aborto cuando se reduce la agregación plaquetaria en respuesta a la ADR (Dempsey y cols., 2015), por lo que las catecolaminas, la 5-HT y la función plaquetaria se relacionan estrechamente con pérdidas gestacionales. En la yegua se desconoce la interrelación entre dichos parámetros en procesos patológicos que cursan con pérdidas embrionarias tempranas, placentitis o abortos en la gestante, por lo que sería interesante en un futuro esclarecer estos hechos biológicos.

5.2.1.2.-SEROTONINA

La serotonemia experimentó un patrón bifásico, con dos picos de secreción máxima, en el 5º y 7º mes de gestación. El modelo de secreción de la 5-HT materna en la yegua confirma parcialmente el descrito en la mujer, alcanzándose valores medios máximos en el 2º trimestre de gestación (Gall y cols., 2011). A pesar de la similitud en el patrón de evolución, los valores medios plasmáticos de dicho neurotransmisor en la yegua PRE fueron superiores a los de la mujer, como previamente sugirieron algunos investigadores (Bailey y Elliott 1998; Lebelt y cols., 1998; Di Pietro y cols., 2010). Esta respuesta de la 5-HT hacia la mitad de la preñez en la mujer se ha relacionado con elevadas tasas de secreción endógena y absorción, y menores tasas de utilización (Hadjikhani, 2010).

La 5-HT una vez sintetizada por las células enterocromafines del tracto GI es metabolizada en la microcirculación hepática y pulmonar, si bien, la mayor parte del remanente se almacena en forma de organelas densas en el interior de las plaquetas. Como se ha expresado previamente, las plaquetas constituyen los lugares de almacenamiento y transporte de 5-HT en sangre periférica, de forma que > 99% del contenido plasmático se encuentra en el plasma rico en plaquetas. Las plaquetas tienen la capacidad de absorber la 5-HT del entorno a través de un transportador, que actúa mediante gradiente de concentración transmembrana, almacenan (Andres y cols., 1993; Torfs y cols., 2012) y pueden liberarla, aunque no la sintetizan (Delesalle y cols., 2008). Las características de este sistema de captación de 5-HT son similares a las de los transportadores en la placenta y neuronas serotoninérgicas (Carrasco y cols., 1998), de ahí su importancia en la gestación. Flachaire y cols. (1993) mostraron concentraciones intraplaquetarias de 5-HT significativamente superiores en el tercer o cuarto mes, con retorno a niveles basales a partir del 5º mes de

gestación hasta el momento del parto. Por otro lado, la 5-HT activa funcionalmente las plaquetas a través de receptores 5-HT₂, amplificando la activación y agregación plaquetaria. Cabe mencionar que la activación plaquetaria *in vivo* está presente durante la gestación normal como parte del estado de hipercoagulabilidad fisiológica (Carrasco y cols., 1998). La exacerbación de la activación plaquetaria puede estar implicada en la coagulación intravascular diseminada (CID), favoreciendo la obstrucción del suministro de sangre a la placenta y otros órganos, induciendo isquemia placentaria, y en consecuencia, las complicaciones de la preeclampsia. A medida que la patología se agrava, las plaquetas son más propensas a adherirse al endotelio y liberar el contenido granular, tromboxano A₂ y 5-HT. Ambas sustancias contribuyen a seguir fomentando la agregación plaquetaria y la formación de fibrina con el objetivo de estabilizar los coágulos plaquetarios, obstaculizando el flujo sanguíneo materno a la placenta y provocando infarto placentario. La 5-HT circulante también puede amplificar la acción vasoconstrictora de ciertos mediadores neurohormonales y provocar contracción de la musculatura lisa vascular y disfunción generalizada de las células endoteliales maternas. La hiperserotoninemia es una de las complicaciones más comunes de la gestación, y una de las principales causas de mortalidad materna y perinatal, caracterizada por hipertensión y proteinuria. De hecho, la 5-HT se considera uno de los agentes constrictores más potentes de la vasculatura arterial y venosa fetoplacentaria (Carrasco y cols., 1998; Bolte y cols., 2001; Sabolovic Rudman y cols., 2015) mediada por las catecolaminas, la ANG-II y la PGF₂ α . En mujeres gestantes normales la 5-HT en el plasma pobre en plaquetas es muy baja, debido a que la mayor parte de ella se acumula en la circulación portal y pulmón, lugares en los que las plaquetas y las células endoteliales compiten por la 5-HT. A pesar de que en mujeres gestantes hipertensas se produce hiperserotoninemia plasmática, el contenido plaquetario de 5-HT es similar al de mujeres normotensas (Carrasco y cols., 1998; Sabolovic Rudman y cols., 2015). No obstante, la tasa de transporte de 5-HT en plaquetas obtenidas de mujeres con preeclampsia se incrementa frente a gestantes normales, debido al aumento de transportadores en la superficie de las plaquetas o, alternativamente, al incremento de actividad del transportador. El incremento del número de transportadores se relaciona con el aumento del recambio plaquetario, resultando en grandes plaquetas circulantes con una mayor área de superficie de membrana, y mayor potencial de expresión de lugares de unión (Carrasco y cols., 1998). Asimismo, las membranas de borde en cepillo en placentas humanas normales a término poseen un sistema de captación activo altamente específico para la 5-HT (Ramamoorthy y cols., 1993). Sin embargo, en mujeres con preeclampsia la actividad del

transportador y la actividad de la MAO disminuyen, aumentando los niveles de 5-HT en el espacio intervelloso (Gujrati y cols., 1996). Esta acumulación de 5-HT difunde al endometrio, causando vasoconstricción e insuficiencia de oxígeno y otros nutrientes (Sagone y Arrotta, 1966).

En opinión de los autores, hasta la actualidad no existen investigaciones relacionadas con la dinámica de la 5-HT durante la gestación en la yegua. Sin embargo, en la mujer, el triptófano se hace necesario para atender las necesidades de aminoácidos y proteínas para el desarrollo fetal (Badawy, 2014). Aunque el triptófano total (fracción libre y unida a la albúmina) disminuye durante la gestación, la fracción libre se incrementa. De hecho, Flachaire y cols. (1993) y Luan y cols. (2014) revelaron incremento progresivo de los niveles de triptófano libre desde el primer hasta el tercer trimestre de gestación, retornando a niveles basales tras el parto, aunque el comienzo del declive del precursor químico de la 5-HT (5-HTP) es más temprano (Luan y cols., 2014). La mayor disponibilidad de triptófano en plasma materno responde por un lado, al incremento de la síntesis de proteínas necesaria para el desarrollo fetal, probablemente mediado por el hígado de la gestante. Por otro lado, las hormonas placentarias, P₄ y estrógenos inhiben la enzima encargada de la degradación de triptófano, indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO) (Abbassi-Ghanavati y cols., 2009; Badawy, 2015), aumentando la fracción libre de triptófano durante el primer trimestre de la gestación.

Hacia la mitad o finales de la gestación, la disponibilidad de triptófano en el plasma materno se mantiene y se ve reforzada por el agotamiento de albúmina y la elevación de NEFAs. En seres humanos, la hemodilución provoca una disminución progresiva de la albúmina materna cifrada en el 13%, 24% y 31% a lo largo de los tres periodos, respectivamente (Abbassi-Ghanavati y cols., 2009). En animales de experimentación se establece un patrón paralelo, ya que el triptófano se libera de los lugares de unión a la albúmina cuando el porcentaje de hemodilución supera el 19% en la gestante. Estas similitudes entre roedores y humanos indican que la disposición de triptófano está sujeta a mecanismos de control similares en ambas especies (Badawy, 2014). En estas especies, los NEFAs también se incrementan particularmente al final de la preñez (Chen y Scholl, 2008; Beltagy y cols., 2011). La competición de los NEFAs por la unión a la albúmina desplaza al triptófano elevando sensiblemente la fracción libre en el plasma materno durante los dos últimos periodos de gestación. La mayor disponibilidad de triptófano en el plasma materno asegura una actividad serotoninérgica adecuada necesaria para la síntesis de proteínas, mejora de vías de señalización, favorece la síntesis de diversas sustancias como, ácido quinurénico, de efecto

neuroprotector, ácido quinolínico necesario para la síntesis de NAD⁺, y cinureninas para suprimir el rechazo fetal vía supresión de la respuesta mediada por las células T (Badawy, 2014; 2015). De hecho, las concentraciones de triptófano en el cordón umbilical y fracción libre fetal representan un 70% -108% y 68% -125%, respectivamente, frente a los niveles maternos. Estos datos aseguran un aporte suficiente de aminoácidos, proteínas y el transporte de ambos, necesario para el desarrollo fetal (Moe, 1995).

La 5-HT materna controla la morfogénesis en los primeros estadios del desarrollo fetal, pudiendo alcanzar el SNC debido a la transferencia placentaria e incremento de permeabilidad de la barrera hematoencefálica (Coté y cols., 2007). Así, la síntesis de 5-HT placentaria a partir del triptófano y la liberación a circulación fetal favorecen el desarrollo cerebral (Bonnin y Levitt, 2011). Determinadas situaciones de estrés materno aumentan los niveles de triptófano libre, que tras ser metabolizados por la placenta a 5-HT pasa a circulación fetal provocando alteraciones en el desarrollo neuronal (Bonnin y Levitt, 2011; Khozhai, 2016). De la misma forma, la ingesta de fármacos o determinados alimentos ricos en triptófano y 5-HT en la gestante inducen hiperserotoninemia en la madre y el feto, conduciendo a la pérdida de terminales serotoninérgicos en el SNC fetal mediante mecanismo feedback (Hadjikhani, 2010). Estas alteraciones perturban la secreción de GH hipofisaria, limitan la producción hepática de IGF-1 y el desarrollo fetal (Castrogiovanni y cols., 2014; Musumeci y cols., 2014).

Por otro lado, el incremento de 5-HT durante la gestación está relacionado con modificaciones en el metabolismo proteico secundarias a cambios en la microflora intestinal en la gestante. Para analizar la actividad de la microflora en la síntesis de triptófano y 5-HT, diversos estudios experimentales realizados en mujeres transfirieron bacterias intestinales del primer, segundo y tercer trimestre de gestación a animales de experimentación exentos de microflora intestinal. Aquellos animales transferidos con microflora del primer trimestre no fueron diferentes a los de mujeres sanas no gestantes. Sin embargo, en el tercer trimestre las características de la flora se asemejaron a la de mujeres que presentan disbiosis intestinal. Estos cambios en la flora promueven el aumento de la eficiencia para la obtención de energía, representado por la formación de tejido adiposo e insensibilidad a insulina, como sucede en el síndrome metabólico. Estas modificaciones se consideran adaptaciones metabólicas para favorecer la disponibilidad de glucosa necesarias para el crecimiento del feto, como se ha hipotetizado en la yegua (Hoffman y cols., 2003).

Asimismo, Koren y cols. (2012) documentaron que la microbiota del tercer periodo de gestación soporta más intensamente la proliferación de Proteobacterias que la del primer trimestre. Se ha hipotetizado que estas modificaciones en la microflora son adaptaciones inmunitarias (Koren y cols., 2012; Mukhopadhyay y cols., 2012) que previenen alteraciones inmunológicas a nivel del lecho fetoplacentario (Beigi y cols., 2007; Straka y cols., 2011). Adicionalmente, la serotonemia disminuye sensiblemente en animales exentos de flora intestinal frente a los que disponen de flora intacta (Wikoff y cols., 2009). Aunque el estado hormonal e inmunitario, la dieta (Wu y cols., 2011; Koren y cols., 2012) y otros factores genéticos (Spor y cols., 2011) están implicados en las modificaciones de la flora intestinal, síntesis de triptófano y 5-HT en animales de experimentación y seres humanos, en la yegua se desconocen estos hechos. Sería interesante en un futuro analizar los cambios que potencialmente podrían producirse en la microflora intestinal en yeguas fisiológicamente sanas y sus implicaciones sobre el crecimiento y desarrollo fetal.

La 5-HT ejerce un papel decisivo sobre el mantenimiento de la gestación en algunas especies animales, si bien, estos efectos permanecen desconocidos hasta la actualidad en la yegua. En la mujer, las proteínas transportadoras de 5-HT a nivel placentario (Rose-Meyer, 2013) regulan el mantenimiento de los niveles extracelulares de 5-HT (Moiseiwitsch, 2000) así como el desarrollo placentario y fetal (Balkovetz y cols., 1989). Por tanto, modificaciones bruscas en la homeostasis serotoninérgica a nivel uterino pueden afectar a la viabilidad del embrión y al mantenimiento de la gestación (Il'Ková y cols., 2004; Coté y cols., 2007; Palomares y cols., 2013). De hecho, la administración exógena de 5-HT e inhibidores de la MAO en animales de experimentación provoca el cese de la gestación (Lindsay y cols., 1963), ya que dichas enzimas catalizan la degradación de este neurotransmisor. Sin embargo, a inicios de la gestación este efecto puede prevenirse mediante la aplicación de P_4 , por lo que la inhibición de la función luteal sería la causa principal de la reabsorción embrionaria mediada por la 5-HT. Por el contrario, los agentes luteotrópicos durante la segunda mitad de la preñez muestran menor efectividad, sugiriéndose una acción serotoninérgica periférica relacionada con el flujo sanguíneo y la funcionalidad placentaria (Robson y Senior, 1963).

La 5-HT favorece la homeostasis de la glucosa mediada por la expresión y activación de receptores de superficie a nivel de los hepatocitos, adipocitos y células β -pancreáticas (Cataldo y cols., 2014) durante la gestación y lactación en vacas y animales de experimentación (Matsuda y cols., 2004; Hernandez y cols., 2008; Laporta y cols., 2013). De forma genérica, la resistencia a la insulina característica de la gestación, suele compensarse por el aumento de

células β -pancreáticas y la secreción de insulina (Kim y cols., 2010; Rieck y Kaestner, 2010; Cataldo y cols., 2014). En animales de experimentación, la síntesis de 5-HT se incrementa durante la gestación por parte de una subpoblación concreta de células β -pancreáticas, correlacionándose positivamente con la expresión de la enzima TPH (Kim y cols., 2010; Schraenen y cols., 2010). Algunos autores han sugerido que la 5-HT sintetizada a nivel pancreático actúa de forma autocrina favoreciendo la proliferación de células β y/o la secreción de insulina durante la gestación. De hecho, la expresión de receptores serotoninérgicos en los islotes pancreáticos se modifica durante el primer y segundo periodo coincidiendo con la mayor actividad celular y elevación de los niveles de insulina circulante, revirtiéndose dichos efectos hacia el final de la preñez (Kim y cols., 2010), si bien, esta idea no es defendida por todos los autores (Schraenen y cols., 2010). La 5-HT originada a nivel pancreático contribuye a los niveles sistémicos colaborando en la misma medida al desarrollo fetal (Coté y cols., 2007).

5.2.1.3.-DOPAMINA

Al igual que la 5-HT, la DA siguió un patrón bifásico durante la preñez, con dos picos de secreción máxima, en el tercer y octavo mes gestación, este último ligeramente superior al anterior. Sin embargo, en mujeres sanas los niveles plasmáticos maternos descienden con el avance de la gestación (Li y cols., 1999; Wang y cols., 1999), aunque no llegan a alcanzar la significación estadística (Li y cols., 1999; Shetty y Pathak, 2002). Este declive se ha relacionado con la reducción de DA en el lecho placentario en hembras gestantes, por lo que la gestación podría representar un estado de denervación adrenérgica funcional uterina en situaciones fisiológicas normales (O'Shaughnessy y cols., 1983).

Por el contrario, la dihidrobiopterina (BH2), compuesto intermediario de la síntesis de DA, ADR y NORADR se incrementa durante el segundo periodo, seguido de un drástico descenso durante el tercer periodo de gestación en la mujer (Luan y cols., 2014). La BH2 procede de la oxidación de la tetrahidrobiopterina (BH4), cofactor esencial para la biosíntesis de monoaminas. Según apuntaron estos últimos investigadores, la biotransformación de BH4 en BH2 es crucial para el desarrollo fetal ya que alteraciones en estos derivados conllevan daño neurológico en el feto. En animales de experimentación se produce un incremento dopaminérgico plasmático e hipotalámico significativo a lo largo de la preñez (Ben-Jonathan y cols., 1997; Hiramoto y cols., 2014). Entre los factores implicados en la estimulación basal de

DA durante la gestación destacan los estrógenos (McDermott, 1993; Umezaki y cols., 2001). El efecto de los estrógenos sobre la secreción de DA quedó constatada mediante un estudio realizado por Redmond y cols. (1976). De hecho, la fetectomía conlleva a un descenso simultáneo de las concentraciones plasmáticas de DA y estrógenos. Además, esta respuesta reduce la actividad de la DBH, quedando comprometida la conversión de DA en NORADR. Las correlaciones mostradas entre la DA y el E₁S ($r=0,08$) no han podido corroborar estas evidencias previas basadas en la activación de los estrógenos sobre la síntesis de DA durante la gestación en la yegua PRE.

Zhu y cols. (2002) analizaron la distribución e interrelación de la NORADR y DA en los tejidos placentarios. Ambos neurotransmisores situados en la membrana celular y en el citoplasma del citotrofoblasto incrementaron durante la gestación temprana, aunque en las etapas medias y finales se expresaron en la membrana celular, en el citoplasma del sincitiotrofoblasto así como en el endotelio de los capilares placentarios. Los receptores de ambos neurotransmisores regulan la vascularización de la placenta (Kim y cols., 2001). En mujeres gestantes un descenso aproximado del 70% de actividad de estos receptores se asocia con hipertensión (Vaillancourt y cols., 1997; 1998).

Una de las funciones más conocidas de la DA durante la gestación es la regulación de la síntesis del lactógeno placentario, como ha sido puesto de manifiesto en diversas especies como, seres humanos, rumiantes y animales de experimentación (Kim y cols., 1997; Dosogne y cols., 2000), a excepción de la cerda y la yegua (Dosogne y cols., 2000). El lactógeno placentario es un polipéptido producido por las células trofoblásticas placentarias con importantes propiedades sobre la capacidad luteotrópica y lactogénica. De hecho, el lactógeno placentario estimula la producción de IGF-1 y modula el metabolismo intermediario con la finalidad de garantizar la disponibilidad de glucosa y aminoácidos necesarios durante el crecimiento fetal (Handweger y Freemark, 2000).

En la yegua se desconoce la dinámica que experimenta la DA durante el periodo gestacional, si bien, Ireland y cols. (1991) mostraron que la administración de agonistas de la DA (bromocriptina) reduce la producción de PRL y P₄ en ponies gestantes, provocando una sintomatología similar a la intoxicación producida por el endofito de la festuca. Entre los síntomas clínicos más comunes destacan el alargamiento de la duración de la gestación, agalactia, alteraciones placentarias y nacimiento de potros débiles. De forma inversa, el tratamiento con sulpirida en yeguas gestantes intoxicadas con festuca induce elevación de PRL

9 días después del inicio del tratamiento (Redmond y cols., 1994). En la mujer, la exposición a agonistas dopaminérgicos durante la preñez incrementa el riesgo de abortos y partos prematuros (Hurault-Delarve y cols., 2014). Por el contrario, la administración de DA exógena en algunas especies induce un periodo de inmunosupresión transitorio, incremento de la susceptibilidad a patógenos (Li y cols., 2005), debido a la supresión de la respuesta pro-inflamatoria mediada por las citoquinas (Asfar y cols., 2006). Indirectamente, la DA también puede modificar la respuesta inmunitaria suprimiendo la secreción y funcionalidad de algunas hormonas (Van den Berghe y de Zeguer, 1996), como, la PRL, la GH (Van den Bergue y cols., 1994, a) y la TSH (Van den Berghe y cols., 1994, b).

En la mujer, la DA se incrementa hacia el final de la gestación en el líquido amniótico (Ben-Jonathan y cols., 1980). Se piensa que este neurotransmisor podría intervenir en el inicio del parto al unirse específicamente a sus receptores específicos localizados en la placenta. Tras la unión al receptor, se libera PG (Tada y cols., 1991; Arai y cols., 2000) necesaria para el inicio de la miocontractibilidad uterina (Urban y cols., 1982). Aunque la transferencia transplacentaria no ha sido demostrada en la mujer, no puede descartarse la contribución de la DA fetal a la materna, ya que en primates, la fetectomía induce descenso significativo de numerosas hormonas, incluida la DA (Umezaki y cols., 2001). Por tanto, el incremento de DA materno podría estar relacionado con la drástica elevación de DA fetal (Ben-Jonathan y cols., 1980). Los recién nacidos de madres con altos niveles de DA tienen mejor estabilidad autonómica y menor excitabilidad que los nacidos de madres con bajos niveles de este neurotransmisor. De hecho, el aumento del número de receptores para la DA mejora el temperamento o aminora la emocionalidad negativa tras una leve restricción física, se habitúan mejor al ambiente y presentan mejores tasas de aprendizaje (Laucht y cols., 2006). De forma inversa, niveles prenatales maternos bajos son marcadores de menor actividad dopaminérgica en recién nacidos. Este declive de DA se considera un factor de riesgo de temperamento negativo y retrasos cognitivos (Field y cols., 2008). Estas evidencias sugieren por un lado, que la disminución de DA es un marcador del desarrollo infantil, y por otro, que la depresión materna prenatal podría ser precursora del retraso en el desarrollo del neonato. El declive progresivo de las concentraciones maternas de ADR, NORADR, DA y 5-HT en mujeres gestantes sanas se asocia con pérdida de memoria y depresión (Shetty y Pathak, 2002).

Los cambios observados en los neurotransmisores hipotalámicos parecen estar estrechamente relacionados con el estado nutricional y con la respuesta y control de la producción de PRL. Se ha hipotetizado que estas modificaciones posiblemente se produzcan

para adaptar la descendencia a los cambios metabólicos (Manjarrez-Gutiérrez y cols., 2013). Además, algunas hormonas como, los estrógenos, la P₄, y la oxitocina se han relacionado con el comportamiento materno (Bridges, 1996; Lonstein y cols., 2003). Estos cambios que acontecen hacia el final de la gestación y el parto, parecen modificar la actividad dopaminérgica en áreas neuronales relacionadas con cambios en el comportamiento materno. De hecho, la liberación de DA durante el periodo postparto en ovejas (Kendrick y cols., 1992) y animales de experimentación (Lonstein y cols., 2003) se ha asociado con determinadas conductas comportamentales como, limpieza de las crías y la construcción del nido. La ausencia de correlaciones entre la DA y las hormonas reproductivas consideradas en el estudio (E₁S, P₄, A₄, T y DHEA) no ayuda a dilucidar los efectos biológicos de este neurotransmisor sobre la gestación en la yegua PRE.

Finalmente, la DA interviene en el transporte de iones a través del epitelio renal y GI (Zeng y cols., 2007). A nivel del SRAA la DA inhibe la secreción de aldosterona (Hollis y cols., 2008; Gildea, 2009) y participa en la secreción de renina vía activación del AMPc (Montesinos, 2012), regulando la excreción de sodio y la volemia (Zeng y cols., 2007). En mujeres gestantes hipertensas, los niveles plasmáticos de DA se incrementan sensiblemente debido al aumento de actividad del SNS (Davey y McNab, 1981). Asimismo, en muchos casos se observa una deficiente regulación de la natriuresis por parte de la DA que no responde adecuadamente a la sobrecarga de sodio (Tuck, 1986). Este desequilibrio se relaciona con deficiencias en la síntesis, alteraciones en la captación y/o conversión del precursor o defectos a nivel del receptor dopaminérgico, provocando consecuentemente retención de sodio e incremento de la presión sanguínea (Carey y cols., 2001).

5.2.2.-HORMONAS HIPOFISARIAS

5.2.2.1.-HORMONA ADRENOCORTICOTROPA

Respecto a los primeros 4 meses, las concentraciones plasmáticas de ACTH aumentaron significativamente en el 5º y 6º mes, descendiendo progresivamente hacia el final de la gestación. Dichos resultados confirman los obtenidos en poneis, aproximándose cuantitativamente al perfil hormonal de dicho parámetro hacia la mitad de la gestación (Donaldson y cols., 2005). En opinión de los autores, en la yegua PRE la gestación es una condición fisiológica de estrés que modifica sensiblemente el patrón de secreción de la ACTH. Esta dinámica que al mismo tiempo fue detectada en el mes de septiembre, difiere de la

mostrada en los meses de enero y mayo en pones gestantes destacando la marcada estacionalidad de la ACTH. A pesar de que la Comunidad Valenciana no suele presentar fluctuaciones térmicas destacables a lo largo del año por tratarse de una zona de clima cálido, el estudio de Donaldson y cols. (2005) se llevó a cabo en Pensilvania, región de clima templado, con notables variaciones estacionales. Las diferencias respecto a la latitud, momento del año y fotoperiodo podrían explicar parcialmente algunas de las variaciones ocasionadas en momentos concretos de la gestación entre ambos estudios.

En la yegua PRE los resultados fueron superiores a los existentes en yeguas PSI (Fazio y cols., 2009), aunque con evoluciones similares. Los valores inferiores en el 4º respecto al 5º mes de gestación en ambos estudios podrían constituir un hecho beneficioso para el feto en relación con la placentación. Se ha documentado que la función placentaria puede quedar inhibida por la ACTH, ya que el incremento de CORT puede desequilibrar las hormonas esteroideas e interferir con la secreción de gonadotropinas (Fitko, 1965; Gill y cols., 1985) o ejercer un efecto negativo sobre la implantación del cigoto (Gill y cols., 1985; Fazio y cols., 2009). Tal vez estos hechos fisiológicos podrían justificar la reducción en las concentraciones de ACTH observadas durante los primeros meses de gestación en la yegua.

Por el contrario, las investigaciones llevadas a cabo en la mujer (Carr y cols., 1981) y en la oveja (Bell y cols., 1991; Keller-Wood y Wood, 2008) han descrito un incremento plasmático progresivo de ACTH durante la gestación. El citoplasma de las células epiteliales glandulares endometriales contiene CRH, cuyos receptores se expresan en el miometrio. Se ha sugerido que la CRH de origen fetal y materno regula la producción del ligando Fas (FasL), afectando al proceso de implantación a través de una serie de mecanismos auto o paracrinológicos locales a nivel de las células citotrofoblásticas. La CRH de origen placentario se incrementa exponencialmente desde el inicio al final de la gestación. El nivel materno de ACTH aumenta exponencialmente a partir del primer trimestre debido a la acción conjunta de la producción placentaria de CRH y ACTH hipofisaria. Esta sobreestimulación de la ACTH induce gradualmente hipertrofia de las glándulas adrenales y en consecuencia, hipercortisolemia (Goland y cols., 1992; Chan y cols., 1993; Ochedalski y cols., 2001; Klimek, 2005; Mastorakos y Ilias, 2003).

Los niveles hipotalámicos de CRH son detectables en el feto a partir de las 12 semanas de gestación, aunque con cifras significativamente inferiores (50%) a los plasmáticos maternos. La CRH circulante fetal es casi exclusivamente de origen placentario, aunque la síntesis es más lenta en el compartimiento fetal. De esta forma, la liberación de ACTH es detectable en el

plasma fetal a las 12 semanas, se mantiene hasta las 34 semanas y declina durante la gestación tardía. La glándula suprarrenal fetal en seres humanos alcanza un tamaño significativamente superior a la del adulto, incrementando la capacidad esteroidogénica. Aunque la mayor proporción de CORT presente en la circulación fetal es de origen materno, la adrenal fetal utiliza elevados niveles de P₄ placentaria para producir dicho esteroide. Otra de las fuentes de CORT para el feto es el líquido amniótico, en el cual es convertido en cortisona por parte de la decidua coriónica. En ovinos, la CRH de origen placentario estimula la producción de ACTH y CORT fetal (Mastorakos y Ilias, 2003). Diversas complicaciones gestacionales como la preeclampsia y el retraso en el crecimiento intrauterino cursan con elevación plasmática de CRH y activación permanente del eje HHA materno y fetal (Fahlbusch y cols., 2012; Hodická y cols., 2012). Hacia las 33 semanas de gestación, Wadhwa y cols. (2004) establecieron una asociación positiva y significativa entre el CRH materno circulante y el mayor riesgo de parto prematuro y restricción del crecimiento fetal. Asimismo, en abortos espontáneos, los niveles de ACTH se incrementan significativamente durante el primer trimestre de gestación en la mujer (Klimek y cols., 2005).

Las concentraciones de ACTH mantenidas a partir del 6^º mes de gestación en la yegua PRE podrían estar relacionadas con una mayor velocidad de aclaramiento metabólico o con alteraciones en el metabolismo de la proteína precursora de ACTH sintetizada a nivel adenohipofisario y placentario, como ha sido documentado en la mujer (Carr y cols., 1981). Este patrón evolutivo podría responder a la inhibición ejercida por el CORT mediante mecanismo feedback sobre la ACTH. Dicha respuesta fisiológica representa un mecanismo alternativo mediante el cual los glucocorticoides circulantes regulan su propia secreción, estimulando o inhibiendo la liberación de CRH y ACTH a nivel hipotalámico e hipofisario, de forma respectiva (Martin y Crump, 2003). Por el contrario, otras investigaciones no han revelado relaciones entre el CRH y la ACTH a nivel placentario en la mujer (Ochedalski y cols., 2001; Klimek, 2005) ni variaciones en las concentraciones plasmáticas de CRH en yeguas gestantes (Ellis y cols., 1994). Por tanto, la probabilidad de que exista una fuente placentaria y sus acciones reguladoras sobre el eje HHA fetal en la yegua gestante es prácticamente nula, si bien, deberían ser analizadas en un futuro.

El patrón de secreción de la ACTH durante el último mes de gestación en la yegua PRE, caracterizado por un descenso significativo, contrasta con el descrito por Fazio y cols. (2009) en el que se mantiene invariable hasta después del parto. En mujeres, la evolución de la ACTH durante los últimos meses de gestación es variable, habiéndose detectado disminución

(Mastorakos y Ilias, 2003) o elevación (Ochedalski y cols., 2001, Klimek, 2005) hacia el momento del parto. Se ha sugerido que la actividad del eje HHA materno se encuentra inhibida debido a la desensibilización inducida por la elevada cortisolemia, siendo necesaria la acción sinérgica de CRH y vasopresina a nivel de las células corticotropas para estimular la secreción de ACTH (Thomson y cols., 1990; Ochedalski y cols., 2001).

A pesar de que la glándula adrenal fetal ha sido considerada un factor clave para el comienzo del parto (Challis y cols., 1993; Cudd y cols., 1995; Fazio y cols., 2009), Silver y Fowden (1994) no relacionaron la ACTH fetal con el inicio del parto en esta especie. Hacia el momento del alumbramiento, la ACTH se incrementa marcadamente en circulación materna (Ochedalski y cols., 2001, Klimek, 2005) y podría producirse de forma secundaria al estrés inducido por el propio mecanismo físico del parto o estar relacionada con modificaciones en la respuesta inmunitaria materna. De hecho, la ACTH ejerce funciones inmunomoduladoras (Wicherek y cols., 2005; Klimek, 2005) y regula la actividad macrofágica (Fukushima y cols., 2001; Klimek y cols., 2005). No obstante, en animales de experimentación los opioides endógenos atenúan la respuesta materna al estrés mediado por el SNS y el eje HHA. Este mecanismo tiene como finalidad prevenir el nacimiento prematuro e incrementar las reservas de oxitocina necesarias para el inicio del parto (Douglas y Russell, 2001; Russell y cols., 2008). Adicionalmente, la administración de ACTH (Ousey y cols., 2000; 2011) eleva los niveles de progestágenos (Rossdale y cols., 1992; Ousey y cols., 1998) y acelera la maduración fetal y el inicio del parto en la yegua (Ousey y cols., 1998).

5.2.2.2.-HORMONA DEL CRECIMIENTO

Las concentraciones plasmáticas de GH en la yegua PRE fluctuaron entre valores estrechos durante los primeros cuatro meses de gestación, alcanzando dos picos de secreción máxima. El primero de ellos producido en el 5º mes fue de menor intensidad y duración que el 2º, alargándose desde el 7º al 9º mes, decreciendo posteriormente hasta el final de la gestación. Dicha elevación en la yegua PRE corrobora evidencias previas en ponies Shetland (Aurich y cols., 1999). Estos últimos investigadores analizaron el efecto de la estacionalidad y la aplicación de naloxona (antagonista de receptores opioides) sobre las concentraciones de GH en ponies gestantes, cíclicas y ovariectomizadas. En el grupo control, la GH se mantuvo elevada durante toda la gestación, aunque aumentó significativamente después del parto. La aplicación de naloxona indujo una liberación de GH substancial en yeguas cíclicas y en torno al

día 280 de la gestación, sin modificaciones en hembras ovariectomizadas ni en otros periodos gestacionales. Por tanto, la inhibición opioidérgica de la liberación de GH existente tanto en estro como diestro en yeguas cíclicas queda enmascarada durante la gestación. Estos hechos sugieren que la liberación de GH está influenciada por cambios temporales, que a su vez dependen de factores ováricos presentes en yeguas cíclicas y gestantes, en las que la secreción endógena se ve reforzada. Al menos parcialmente, la liberación de GH puede inhibirse por los sistemas opioidérgicos en la yegua.

La GH mejora de la tasa de eclosión del blastocisto y la invasión del trofoblasto, como ha sido puesto de manifiesto en la vaca (Pozzobon y cols., 2005) y animales de experimentación (Drakakis y cols., 1995; Lacroix y cols., 2005). Además, se ha detectado presencia de GH o proteínas similares a la GH en la placenta de primates (Alsat y cols., 1998), ruminantes (Anthony y cols., 1995), roedores (Talamantes y cols., 1988) y otros mamíferos (Forsyth, 1986). Aunque en la mujer estas proteínas placentarias resultan de la expresión del gen hGH-V homólogo en el 92% al gen de la GH hipofisaria (Hull y Harvey, 2001), este gen está ausente en el genoma de mamíferos no primates. En la oveja, la placenta expresa GH ARNm entre los días 35 a 50 de gestación (Lacroix y cols., 1996), actuando como un factor autocrino/paracrino, si bien, los niveles plasmáticos de GH no se modifican durante la preñez en esta especie (Al Gubory y cols., 1999; Hull y Harvey, 2002), al igual que en la cabra (Kornalijnslijper y cols., 1997) y la cerda (Diamini y cols., 1995).

Debido a que la GH placentaria estimula marcadamente la síntesis de IGF-1, dicho factor puede ejercer un efecto feedback negativo sobre la secreción hipofisaria de esta hormona (Alsat y cols., 1997; Hull y Harvey, 2002). Aunque la GH placentaria empieza a detectarse en plasma a las 10-12 semanas, el pico hormonal no se alcanza hasta las 20 semanas de gestación descendiendo drásticamente hacia el momento del parto (Handweger y Freemark, 2000). Este declive hormonal también se ha relacionado con el menor aporte sanguíneo útero-placentario y con la activación de proteasas placentarias relacionadas con el incremento de actividad metabólica celular inducido por la GH. Dichas fluctuaciones en el plasma materno no se producen en el feto, ya que la placenta es impermeable a esta hormona (Hull y Harvey, 2002). La GH de origen placentario presenta un patrón de secreción continuo, y no responde a factores reguladores como la GHRH y somatostatina (Alsat y cols., 1998). Sin embargo, ambas se identifican en la placenta de la mujer (Berry y cols., 1992; Petraglia, 1991), sugiriéndose un posible efecto regulador de la GHRH sobre la secreción hipofisaria fetal de GH, o de forma paracrina, sobre la función placentaria (Nogues y cols., 1997; Hull y Harvey, 2002).

La GH de origen hipofisario se secreta de forma pulsátil durante el primer trimestre, con niveles similares a los de mujeres ingravidas (Hull y Harvey, 2002). Sin embargo, desde la semana 15 hasta la 20 se modifica significativamente el funcionamiento del eje somatotrópico, observándose un descenso progresivo de la secreción de GH hipofisaria, alcanzando niveles indetectables a las 25 semanas de gestación (Mirlesse y cols., 1993; Hull y Harvey, 2002). Dicho descenso se atribuye a la resistencia que oponen las células somatotropas a la acción estimulante de la GHRH así como al efecto feedback ejercido por el IGF-1.

Es importante resaltar la influencia que ejerce la glucemia materna sobre la secreción placentaria de GH, ya que una de las principales funciones de esta hormona es garantizar el correcto aporte de nutrientes al feto. La GH aumenta la concentración de glucosa en el líquido amniótico en la mujer y la síntesis de proteínas por parte del endometrio en la cerda (Rehfeldt y cols., 2004; Hull y Harvey, 2014). Estos efectos antiinsulinémico e hiperglicémico similares a los inducidos por la GH hipofisaria informan de la relación existente entre la GH placentaria, el crecimiento fetal y el peso al nacimiento (McIntyre y cols., 2000), y derivan de la acción de dicha hormona sobre el metabolismo placentario y el aporte de sustratos al feto a través del IGF-1 (McIntyre y cols., 2000; Chellakooty y cols., 2004). Además, el útero constituye un lugar de acción en el cual la GH puede actuar de forma autocrina y paracrina favoreciendo el crecimiento fetal al incrementar el tamaño placentario gracias a su actividad mitógena (Hull y Harvey, 2001) en animales de experimentación (Botero-Ruiz y cols., 1997), cerdas (Sterle y cols., 1995) y ovejas (Jerkinson y cols., 1999) e hipertrofia uterina (Oliveira y cols., 2008; Hull y Harvey, 2014).

Por otro lado, la elevación plasmática de GH en la yegua se ha relacionado con la estimulación ejercida por los progestágenos placentarios (Aurich y cols., 1999). Aunque no se trata de un progestágeno en sí mismo, la P_4 se considera uno de los principales reguladores de la secreción hipotalámica de GH durante el diestro en la mujer (Caufriez y cols., 2009) y la perra (Lee y cols., 2006). En la yegua PRE, las correlaciones obtenidas entre GH y P_4 ($r=-0,03$) no han podido verificar estos hechos fisiológicos, de forma que la síntesis de GH y P_4 son independientes, por lo que deberían estar involucrados otros factores diferentes a la P_4 . Mediante técnicas inmunohistoquímicas se descubrió una proteína que se expresa en los cálices endometriales en la yegua, que podría comportarse como un lactógeno placentario relacionado con la GH (Stewart y cols., 1987). De forma similar a los resultados de Aurich y cols. (1999), las concentraciones plasmáticas de GH en la yegua PRE se mantuvieron elevadas más allá del periodo de permanencia de los cálices, por lo que no podemos descartar la posible

contribución de estos péptidos a la síntesis de GH durante la gestación. Además, debido a que la GH se mantuvo elevada a lo largo de la preñez, podría sugerirse la implicación de otros factores en relación a la secreción de dicha hormona. De hecho, un estudio reciente ha revelado la presencia de un potente agonista del receptor de la P₄, la DHP, que activa los receptores endometriales de la misma forma que la P₄, provocando el crecimiento y el mantenimiento de la gestación a término en la yegua gestante (Scholtz y cols., 2014). Tal vez este agonista podría estar involucrado en mayor medida en la síntesis de GH que la P₄, aunque se necesitarían futuras investigaciones para poder confirmarlo.

Los estrógenos modifican la secreción de GH a nivel hipofisario y su actividad a nivel hepático. Así, la exposición experimental a concentraciones relativamente bajas (<0,1 nM) de estrógenos, provoca un aumento de actividad en las células hipofisarias para la expresión de ARNm de GH y receptores para la GHRH (Childs y cols., 2005). Además, a nivel hepático, los estrógenos inhiben la producción de IGF-1, reduciendo al mismo tiempo el efecto feedback negativo inducido por el IGF-1 sobre la síntesis de GH (Weissberger y cols., 1991; Hull y Harvey, 2002). En la yegua PRE el pico plasmático de estrógenos maternos oscila entre los 190 y 250 días de gestación (Allen y Stewart, 2001; Satué y cols., 2011). Tal vez este podría ser el origen del incremento de GH en torno al séptimo mes de gestación, ya que como se ha descrito previamente, los estrógenos se consideran uno de los principales mecanismos reguladores de la secreción de GH en especies como, la mujer (Hull y Harvey, 2002) y la vaca (Aldrich y cols., 1996). Esta dinámica hormonal también se presenta en animales de experimentación, incrementando progresivamente durante la segunda mitad, seguido por un drástico descenso el día antes del parto (Hull y Harvey, 2002). Estas variaciones reflejan la síntesis hipofisaria, ya que la hipofisectomía en esta última especie reduce la GH a niveles indetectables (Carlsson y cols., 1990). De forma similar a lo que acontecía con la P₄, las correlaciones halladas entre las concentraciones circulantes de GH y E₁S (r=0,11) no han podido confirmar hechos biológicos relacionados con esta hormona esteroidea y la síntesis de GH durante la gestación. Sería interesante en un futuro poder analizar los factores implicados en la síntesis de GH durante la gestación en la yegua PRE, por tratarse de una hormona decisiva para la reproducción. De hecho, en animales incapaces de secretarla, disminuye el número de folículos en todas las etapas de maduración, aumenta el grado de atresia y se reducen las tasas de ovulación e implantación embrionaria (Bachelot y cols, 2002; Slot y cols., 2006).

5.2.2.2.1.-FACTOR DE CRECIMIENTO SIMILAR A LA INSULINA

Las concentraciones medias de IGF-1 alcanzaron en el 5º mes el valor medio máximo, fluctuando entre valores estrechos desde este momento hasta el final de la gestación. Estos niveles fueron inferiores a los obtenidos en yeguas PSI durante el mismo periodo reproductivo (Derar y cols., 2005), si bien, con diversos picos de secreción máxima. Aunque el primer pico de IGF-1 se alcanzó a los 7 días de gestación de forma simultánea al primer aumento de FSH, dicho incremento no alcanzó la significación estadística. Debido al patrón mensual de toma de muestras en la yegua PRE, no fue posible confirmar esta evidencia. Sin embargo, el incremento mostrado en el segundo y tercer mes en la yegua PRE podría confirmar el pico de secreción mostrado a los 28, 49 y 84 días de gestación en la yegua PSI. Estos mismos investigadores revelaron correlaciones significativas y positivas entre el IGF-1 y el número de folículos de mediano y gran tamaño, lo cual sugiere la influencia de dicho factor sobre la FSH y el desarrollo folicular previo a la formación de los CLs secundarios. Estas evidencias también se han puesto de manifiesto en la mujer y en animales de experimentación (Grant y cols., 2005; Sferruzzi-Perri y cols., 2007; Kedzia y cols., 2013). Quizás en la yegua PRE sucedan mecanismos hormonales similares. A pesar de ello, Lauszus y cols. (2003) registraron un pico de secreción de IGF-1 más tardío en la mujer, iniciándose a las 20 semanas y alcanzando una meseta a las 32 semanas de gestación. Por el contrario, en mujeres gestantes con función somatotrófica normal los niveles de IGF-1 pueden disminuir durante el primer periodo en respuesta a la resistencia hepática a la GH asociada al mismo tiempo con el aumento fisiológico de los estrógenos durante este periodo (Persechini y cols., 2015).

El papel que desempeña el IGF-1 en la fisiología de la gestación es determinante, favoreciendo la tasa de segmentación embrionaria en diversas especies como la mujer (Magier y cols., 1990), la vaca (Rieger y cols., 1998), la oveja (Guler y cols., 2000) y en animales de experimentación (Lorenzo y cols., 1996), la proliferación y migración de las células placentarias (Lacey y cols., 2002; Hills y cols., 2004) y la prevención de los procesos apoptóticos en el blastocisto (Herrler y cols., 1998). Por otro lado, este factor juega un papel trascendente sobre la secreción de P₄ por parte del CL durante el periodo luteal y la gestación en rumiantes (Khan-Dawood y cols., 1994; Liebermann y cols., 1996). A pesar de ello, las correlaciones mostradas entre el IGF-1 y la P₄ (r=0,08) en la yegua PRE no han podido confirmar este hecho fisiológico basado en la estimulación de los CLs y la síntesis de P₄ por parte del IGF-1.

El IGF-1 materno también favorece el crecimiento y metabolismo del trofoblasto y la placenta, siendo esencial para el aporte de nutrientes al feto debido al incremento de la superficie de intercambio (Chellakooty y cols., 2004; Grant y cols., 2005). El IGF-1 se expresa en el oviducto, secreciones uterinas (Carlsson y cols., 1993; Winger y cols., 1997), embrión y endometrio (Herrler y cols., 2000) incluso antes de la implantación (Doherty y cols., 1994), indicando su participación activa sobre el crecimiento placentario, desarrollo fetal (Sferruzzi-Perri y cols., 2007) y el tamaño al nacimiento (Hills y cols., 1996; Kędzia y cols., 2013; Yang y cols., 2013). En la yegua, la expresión de los factores IGF-1, IGF-2 y sus receptores, se incrementa en el endometrio materno y en las membranas del concepto durante la gestación temprana. Así, la expresión de IGF-1 y ARNm del IGF-2R se amplifica en el endometrio desde el día 7 hasta el 21, y el IGF-1R hacia el día 14. En las membranas del concepto, aunque la expresión de estos factores es escasa entre los 7 y 14 días, se incrementa a partir del día 21 coincidiendo con el comienzo de la desintegración de la cápsula de blastocisto. Estas evidencias sugieren que el sistema IGF desempeña un papel trascendental en el crecimiento embrionario temprano y la preparación para la placentación en la yegua (Kurar y cols., 2010; Gibson y cols., 2015). El aumento de expresión del IGF-2 en el cinturón coriónico promueve la invasividad del trofoblasto, y en el alantocorion tras la implantación el desarrollo epitelial de la placenta (Lennard y cols., 1995). A pesar de ello, Derar y cols. (2005) no correlacionaron la tasa de crecimiento del concepto y el patrón de secreción del IGF-1 durante las primeras etapas de la gestación en la yegua.

Aunque el incremento de IGF-1 en la yegua PRE fue simultáneo al primer pico de GH en el 5º mes, esta hormona siguió incrementando significativamente hasta el 7º mes en ausencia de modificaciones del factor, no revelándose correlaciones significativas entre ambos parámetros ($r=0,05$). En relación a estos acontecimientos, algunas investigaciones realizadas en la mujer han revelado resultados contradictorios. Mientras que la GH placentaria e IGF-1 se elevan sincrónicamente y muestran correlaciones significativas positivas hasta el momento del parto (Kędzia y cols., 2013), ambos pueden actuar de forma independiente (Higgins y cols., 2012). En la yegua, aunque hasta la actualidad no se ha identificado la forma placentaria de GH, se desconoce su posible contribución a los niveles sistémicos de IGF-1. No obstante, otros factores hormonales locales, sistémicos o metabólicos podrían estar implicados en esta respuesta. Así, en la mujer (Yang y cols., 2013) y en animales de experimentación (Grant y cols., 2005) las gonadotropinas, el E_2 (Hull y Harvey, 2014), la actividad hepática y el tejido adiposo actúan como agentes estimulantes del IGF-1 hacia mitad de la gestación, ya que el

incremento de la masa corporal, volumen sanguíneo, hiperplasia del tejido adiposo, desarrollo de la glándula mamaria, tejido óseo y fetal tiene lugar durante el segundo trimestre de la gestación (Sale y cols., 2007; Møller y cols., 2013; Yang y cols., 2013). De forma similar a estas especies, las concentraciones plasmáticas de IGF-1 y GH en la yegua están influenciadas por la condición corporal. De hecho, en animales obesos, el IGF-1 se eleva a la vez que la GH disminuye (Salazar Ortiz y cols., 2011). Este declive en la secreción de GH se produce como consecuencia del feedback negativo inducido por la IGF-1 a nivel central. Por el contrario, esta relación se invierte en yeguas ligeras, con descenso de IGF-1 e incremento de GH. En estos casos, la reducción en la secreción de IGF-1 se relaciona con la escasa disponibilidad de receptores para la GH a nivel hepático, dependiente a su vez de la insulina, leptina y/o adiponectina, como ha sido documentado en rumiantes y animales de experimentación (Butler y cols., 2003; Lubbers y cols., 2013). Aunque la biodisponibilidad de IGF-1 puede ser modificada por la alimentación y/o condición corporal, no podemos obviar el patrón pulsátil mostrado por la GH (De Graaf-Roelfsema, 2007), ya que los muestreos diarios a distintas horas de la mañana podrían haber generado diferencias entre ambos parámetros.

En mujeres fisiológicamente normales la GH circulante de origen hipofisario durante el primer trimestre de gestación se secreta en forma pulsátil, si bien, en el segundo y tercer periodo predomina la GH de origen placentario producida en forma continua (Bruera y cols., 2007). Como se ha expresado previamente, la GH placentaria se expresa exclusivamente en el sincitiotrofoblasto y se libera a la circulación materna en concentraciones crecientes a partir de las 7 u 8 semanas de gestación (Lonberg y cols., 2003; Chellakooty y cols., 2004). La GH placentaria suprime la producción de GH hipofisaria materna regulando al mismo tiempo los niveles maternos de IGF-1. Desde el punto de vista clínico, la reducción de GH placentaria conlleva a restricción del crecimiento fetal mediado por el descenso de IGF-1 (Chellakooty y cols., 2002; 2004; Fu y cols., 2015; McKnight y cols., 2015). No obstante, la elevación de GH placentaria durante la segunda mitad de la gestación se acompaña de preeclampsia asociada también con restricción en el crecimiento intrauterino, como se ha documentado en la mujer (Papadopoulou y cols., 2006). En este tipo de gestaciones, aunque la GH placentaria incrementa la bioactividad del IGF-1, este disminuye más tardíamente debido a la insuficiencia placentaria, provocando efectos perjudiciales sobre el crecimiento fetal (Vattens y cols., 2008).

Hacia el final de la gestación, los niveles de IGF-1 en la yegua PRE fueron inferiores a los mostrados en yeguas árabes (Abo El-Maaty y cols., 2013) y otras razas equinas (Deichsel y cols., 2006), aunque dichas diferencias podrían estar relacionadas con la variedad racial, como

previamente describieron Malinowski y cols. (1996). El parto constituye una necesidad energética creciente y de máximo estrés (Marchini y cols., 2005), por lo que la insulina pancreática materna intraútero proporciona las reservas energéticas adecuadas para el mantenimiento de la glucemia postparto (Beardsall y Dunger, 2007). El IGF-1 interviene en el metabolismo de la glucosa con acciones similares a la insulina, si bien, para garantizar la homeostasis de la glucemia, la GH ejerce efectos opuestos (Holt y cols., 2003). Diversos estudios en yeguas han revelado que el IGF-1 alcanza niveles máximos dos días después del parto, y disminuye gradualmente en el momento del destete (Hess-Dudan y cols., 1994; Heidler y cols., 2003; Abo El-Maaty y cols., 2013; Filipóvic y cols., 2014). Dicho incremento de IGF-1 en el postparto temprano contribuye a la estimulación ovárica y al retorno de la actividad ovárica en la yegua (Heidler y cols., 2003).

Aunque el tratamiento con somatotropinas modula el desarrollo del concepto y la gestación en la vaca (Bilby y cols., 2006), puede inducir hipersecreción de IGF-1 e insulina y asincronía en el crecimiento uterino y embrionario, lo cual podría resultar perjudicial para el avance de la gestación (Bilby y cols., 2004). Sin embargo, este tipo de terapias en vacas lactantes aumenta las concentraciones plasmáticas de IGF-1, aunque no mejora el tamaño fetal, los niveles maternos de P_4 ni las tasas de crecimiento postnatal en terneros (Mercadante y cols., 2016). De hecho, Gohary y cols. (2014) no recomiendan el uso de este tipo de terapias antes del parto para prevenir la enfermedad y mejorar el rendimiento en esta especie. Por el contrario, este tipo de tratamientos en mujeres se traduce en buenos índices de fertilidad (Giampietro y cols., 2009), gestaciones y partos normales (Sakai y cols., 2011).

5.2.3.-HORMONAS PLACENTARIAS

La función principal de la placenta es proporcionar una interfaz entre la madre y el feto para permitir el intercambio metabólico de nutrientes, oxígeno y material de desecho. A tal fin, la placenta se comporta como un órgano endocrino, paracrino y autocrino en el que se encuentran receptores específicos para las hormonas esteroideas (andrógenos, estrógenos y P_4), necesarios para el correcto desarrollo placentario y mantenimiento de la gestación. Asimismo, otras hormonas originadas en el lecho materno y fetal actúan sobre la placenta, para garantizar su adecuado desarrollo y funcionalidad (Davis y cols., 2016, in press).

5.2.3.1.-ANDRÓGENOS: ANDROSTENEDIONA, DEHIDROEPIANDROSTERONA Y TESTOSTERONA

Las concentraciones plasmáticas de A_4 y DHEA alcanzaron niveles máximos entre el segundo y sexto mes de gestación, si bien, el pico máximo para la T se alcanzó de forma más tardía, detectándose en el último mes de gestación. Aunque la dinámica de la T en la yegua PRE confirma parcialmente la obtenida por Silberzahn y cols. (1984), Daels y cols. (1996) y McCue (2014) en esta misma especie, no muestra visiblemente el patrón bifásico descrito por Silberzahn y cols. (1984) y Daels y cols. (1996). Mientras McCue (2014) argumentó que la dinámica de los andrógenos es similar a la de los estrógenos, Silberzahn y cols. (1984) mostraron que la T aumenta gradualmente desde el inicio de la gestación alcanzando el pico de secreción máximo en el séptimo mes, con niveles 10 veces superiores al basal. Además, Daels y cols. (1996) documentaron que la ausencia de CL funcional en la yegua gestante reduce drásticamente los niveles plasmáticos de T respecto a las que presentan un CL maduro dinámico en el periodo previo a la secreción de eCG. Aunque al comienzo de la síntesis de eCG, la T se incrementa rápidamente, la tasa de secreción disminuye con el tiempo. La falta de variaciones en el perfil de la T sugiere que las células luteales contribuyen significativamente a la síntesis y liberación plasmática de T. Por tanto, la relación temporal entre el inicio de la secreción de eCG y el aumento de T en yeguas con CL funcional y la ausencia en yeguas sin CL energético, sugiere que la elevación de T después del día 35 de la gestación tras el establecimiento de los cálices endometriales es la consecuencia de la estimulación por parte de la eGC sobre el tejido luteal (Ginther, 1992; Daels y cols., 1996; Albretch y cols., 1997).

Tanto los receptores androgénicos como la señalización de los andrógenos ejercen un papel decisivo en procesos uterinos relacionados con la receptividad, la implantación y la decidualización (Adams y DeMayo, 2015). En animales de experimentación, este receptor se expresa en los núcleos de las células estromales, favoreciendo la proliferación y diferenciación del estroma uterino, así como la implantación embrionaria durante la gestación temprana (Xu y cols., 2015). Dichos receptores en la mujer regulan los genes implicados en la organización del citoesqueleto, la motilidad celular y la progresión del ciclo celular, aumentando al mismo tiempo, la secreción de PRL. Estas evidencias sugieren que los andrógenos desempeñan un papel importante en la transformación celular asociada con la decidualización durante la gestación temprana (Kajihara y cols., 2014). Una investigación reciente en la yegua ha puesto de manifiesto la presencia de receptores androgénicos en la placenta (Davis y cols., 2016, in press). Desde el punto de vista clínico, la elevación excesiva de los niveles de andrógenos

durante la preñez conlleva reducción del peso placentario, actividad de los transportadores de aminoácidos (Sun y cols., 2012) y alteraciones en la regulación de los genes implicados en el desarrollo vascular y la angiogénesis placentaria, que finalmente pueden reducir el calibre de los vasos arteriales y provocar la falta de oxigenación placentaria (Gopalakrishnan y cols., 2016). En la yegua se desconocen estos hechos. Sería interesante en un futuro conocer las implicaciones de estos esteroides y sus receptores a nivel uterino, para posteriormente, poder ser aplicados a patologías placentarias que pudiesen cursar con pérdidas gestacionales.

Aunque el CL sintetiza fundamentalmente P_4 durante los primeros 35 días de gestación, la estimulación inducida por la eCG sobre el CL promueve la síntesis de estrógenos y andrógenos, alcanzándose un pico que llega a triplicar los valores diestrales (Silberzahn y cols., 1978; 1984; Daels y cols., 1990; 1991; 1996; 1998; Albretch y cols., 1997). El mecanismo mediante el cual la eCG regula la función luteal permanece desconocido hasta la actualidad. No obstante, la administración experimental de dicha hormona conlleva a la producción de estrógenos y andrógenos por parte del CL a partir de las 24 horas. Este retraso implica que una o más enzimas esteroideogénicas deben ir expresándose en el CL para tener la capacidad de iniciar la síntesis de eCG (Daels y Albrecht, 1995; Albretch y cols., 1997). De hecho, la eCG favorece la transcripción del ADN en ARNm y la síntesis de la cadena proteica en el genoma de las enzimas esteroideogénicas encargadas de la síntesis de A_4 y DHEA (Albretch y cols., 2000, 2001). Las correlaciones obtenidas entre la T y la A_4 ($r=0,34$), y, la A_4 y DHEA ($r=0,38$) podría indicar una interacción entre la glándula adrenal y el ovario para la síntesis de andrógenos. Las rutas esteroideogénicas en la adrenal y CL materno podrían estar sometidos a mecanismos de regulación similares durante la gestación. La interconversión periférica entre la T y la A_4 parece atribuirse al hecho de que la mitad de A_4 es de origen luteal.

La A_4 muestra un perfil inicial similar a la T (Daels y cols., 1998). Los hallazgos en la yegua PRE confirman el efecto de la eCG sobre la esteroideogénesis luteal, ya que los niveles circulantes de T y A_4 se incrementan al inicio de la gestación simultáneamente a la formación de los cálices endometriales. La expresión del citocromo $P450_{17\alpha}$ aumenta y la del P450 aromatasa desciende tras el inicio de secreción de eCG, sugiriendo al mismo tiempo, que la producción de andrógenos es el paso limitante para la síntesis de estrógenos (Albrecht y cols., 1997; 2001). La contribución del CL a la síntesis de estrógenos y andrógenos queda limitada al inicio de la gestación, ya que posteriormente, no existen evidencias de la expresión de dichas enzimas.

Tras la elevación significativa experimentada durante los tres primeros meses, la T sufre una breve disminución en el 4^º mes, incrementándose de nuevo a partir de los 100 a los 180 días (Silberzahn y cols., 1984; Daels y cols., 1996; Canisso y cols., 2016), manteniéndose estable hasta los 240 días (Canisso y cols., 2016). Las gónadas fetales presentan una notable expresión de citocromo P450_{17 α} , detectándose elevados niveles de P₅ y DHEA en la circulación fetal (Raeside y cols., 1982; Hasegawa y cols., 2001). En la gónada fetal, el citocromo P450_{17 α} participa en la síntesis de DHEA a partir de la P₅ desde el día 70 o 75 de gestación (Terqui y Palmer, 1979; Kindahl y cols., 1982; Albretch y cols., 2000, 2001). La gónada es el órgano implicado en la producción de andrógenos, principalmente DHEA, proporcionando el sustrato necesario para la síntesis de estrógenos a nivel placentario. En la placenta se localizan las enzimas necesarias para la conversión de DHEA en otros andrógenos (3 β -HSD) y su aromatización a estrógenos (P450arom) (Hasegawa y cols., 2001). El pico máximo de DHEA en la yegua PRE se produjo un mes previo al del estudio de Canisso y cols. (2016). El incremento de T y DHEA en la yegua PRE a mitad de gestación podría confirmar la síntesis fetal de dichos esteroides. No obstante, la asincronía entre ambas hormonas ($r_{T-DHEA}=0,40$), al igual que la T y la A₄ ($r_{T-A4}=0,34$), podría sugerir alteraciones para la detección, debido a la rápida aromatización a estrógenos a nivel placentario, una mayor tasa de aclaramiento metabólico, el efecto de la edad de la gestante así como el número de partos previos, como ha sido documentado en la mujer (Carlsen y cols., 2003; Troisi y cols., 2003; 2008; Toriola y cols., 2011). En algunas yeguas gestantes la elevación de andrógenos hacia mitad de la gestación, se ha relacionado con cambios comportamentales, como agresividad o comportamiento masculino (McCue, 2014).

Existen mecanismos fisiológicos que protegen a la madre y al feto del exceso de andrógenos durante la gestación que incluyen: incremento de las proteínas de unión; elevación de P₄, hormona que compite con los andrógenos a nivel de los receptores androgénicos; la enzima reductasa, encargada de la conversión de T en DHT; y, el eficiente metabolismo placentario, que impide el incremento de estos esteroides en la circulación fetal (Birrell y cols., 2007; Hammond, 2011; Makieva y cols., 2014). Hacia el final de la gestación, el aumento tardío de T observado en la yegua PRE contrasta con el descrito por Canisso y cols. (2016), quienes detectaron descenso progresivo desde los 240 hasta 290 días de gestación, aunque confirma el presente en la mujer (Saez y cols., 1972; Bammann y cols., 1980; Berger y cols., 1984). Esta elevación de T hacia el final de la gestación en la yegua PRE tal vez esté relacionada con la remodelación cervical a término, necesaria para la maduración del cérvix

mediada por cambios en las fibras de colágeno y la relajación miometrial (Makieva y cols., 2014).

5.2.3.2.-SULFATO DE ESTRONA

En comparación con el primer y segundo mes, los niveles plasmáticos de E₁S se incrementaron significativamente a partir del tercer mes, hasta alcanzar en el séptimo mes el nivel medio máximo. A partir del octavo mes, disminuyó de forma progresiva, manteniéndose con niveles estrechos hasta el final de la gestación. Esta dinámica hormonal confirma la detectada previamente en yeguas de la misma raza por Satué y cols. (2011).

El E₁S es el estrógeno predominante en el saco embrionario y líquido uterino entre los días 18 y 20 de la gestación. Estas modificaciones se producen en el ambiente uterino, sin manifestaciones a nivel plasmático materno. Se ha sugerido que este podría ser origen de la baja concentración estrogénica circulante encontrada en la yegua PRE durante el primer mes de gestación (Satué y cols., 2011). En pones gestantes, el análisis de las muestras sanguíneas a los 17-20 días postovulación muestra bajos niveles de E₁S (7 ng/ml) (Makawiti y cols., 1983), resultados ligeramente inferiores a los mostrados en las yeguas del presente estudio.

La presencia de estrógenos en el fluido vitelino del embrión equino (Raeside y cols., 2004) y la localización de enzimas esteroideogénicas, como 3 β HSD y P450arom en el concepto (Flood y Marrable, 1975; Heap y cols., 1982; Paulo y Tischner, 1985; Walters y cols., 2000) sugieren su potencial contribución en el reconocimiento maternal de la gestación en la yegua. De hecho, los estrógenos de origen embrionario ejercen importantes efectos intrauterinos locales como, actividad miometrial, movilidad uterina, el desarrollo de la vasculatura y secreción de las glándulas endometriales (Raeside y cols., 2012), así como la interacción con el endometrio materno (Walters y cols., 2000), necesarios para el desarrollo del concepto.

Como ha sido descrito previamente, el CL primario de gestación participa en la secreción E₁S en respuesta a la estimulación por parte de la eCG. Se han detectado niveles hormonales de E₁S entre 3 y 5 ng/ml en la yegua durante los dos primeros meses de gestación, asociados con el desarrollo folicular previo a la formación de los CLs (Daels y cols., 1991). Aunque la contribución ovárica es importante para la síntesis de E₁S, parece ser que el producto de la concepción es la mayor fuente de síntesis durante las fases tempranas de la gestación (Kasman y cols., 1988). En contraposición, Hoffmann y cols. (2014) revelaron que los

niveles de estrógenos totales superiores a 5 ng/ml son indicativos de gestación, aunque sin aumento concomitante de la formación de CLs en burras.

Con posterioridad, las concentraciones de E₁S se incrementaron significativamente, si bien, el pico hormonal se alcanzó más tardíamente en las yeguas de la presente investigación frente a los descritos previamente por Henderson y Eayrs (2004) y Satué y cols. (2011). Esta elevación de E₁S a partir del tercer mes refleja la producción de estrógenos debido al desarrollo de la unidad fetoplacentaria (Möstl, 1994), en el que la gónada fetal es la fuente principal de DHEA y el precursor de los estrógenos a nivel placentario (E₁S, E₂ α y 17 β) (Allen, 2005). La DHEA es secretada abundantemente por las gónadas fetales hipertrofiadas hasta la regresión hacia el final de la gestación, momento en el que cesa la síntesis (Möstl, 1994; Raeside y cols., 1997).

El E₁S está presente en los fluidos fetales y plasma, leche y orina maternas. La medición de E₁S en plasma u orina en la madre confirma la gestación a partir de los 80 días. Se ha establecido que niveles superiores a 100 ng/ml indican la presencia de feto viable, mientras que inferiores a 10 ng/ml revelan pérdida gestacional o esterilidad (Daels y cols., 1995). Los estrógenos (E₁S, E₂ y estriol) modulan la vascularización uterina (Hasegawa y cols., 2001; Jobe y cols., 2013). Diversos estudios histológicos han mostrado la localización de E₁S alrededor de las arteriolas espirales uterinas, sugiriendo el papel de dichos esteroides sobre la remodelación vascular durante la invasión del trofoblasto y la placentación en la mujer (Lash y cols., 2010; 2011; Wallace y cols., 2012; Gibson y cols., 2015).

Hacia los 120 a 240 días de gestación se han detectado niveles plasmáticos superiores a 100 ng/ml en ponies (Cox, 1975), similares a los obtenidos en las yeguas de esta y otras investigaciones precedentes realizadas en yeguas de la misma raza (Domingo, 2008; Satué y cols., 2011), si bien, estos valores posteriormente declinan hasta el momento del parto. Esta dinámica representa la relación existente entre el incremento progresivo de la concentración de E₁S y la funcionalidad de la unidad fetoplacentaria (Cox, 1975).

5.2.3.3.-PROGESTERONA

Las concentraciones medias en el primer mes de gestación fueron similares a las descritas por diversos autores durante el periodo luteal del ciclo estral. De hecho, en yeguas ingravidas de la misma raza se alcanzaron medias similares en el 5º día postovulación (Satué y

cols., 2012; 2014). De la misma forma, se han reportado rangos para la P₄ que oscilan entre 6 y 10 ng/ml (Daels y Hughes, 1993), 9,35 y 28,57 ng/ml (López y cols., 2008) y 2,51 a 18,8 ng/ml (Paredes y cols., 2013) hacia la mitad del diestro en la yegua. Estos resultados indican la madurez funcional del CL (Nagy y cols., 2004; Bergfelt y Adams, 2007), caracterizada por aumento progresivo de las concentraciones circulantes de P₄ (>1 ng/ml), relacionándose estructuralmente con un incremento del diámetro del CL e irrigación sanguínea y disminución de la ecogenicidad (Bergfelt y Adams, 2007; Brogan y cols., 2016). Así, el flujo sanguíneo luteal se correlaciona positivamente con la superficie del CL y ambas, con los niveles de P₄ (r=0,64) una vez que el CL alcanza la madurez funcional (Šichtař1 y cols., 2013).

En la yegua PRE las concentraciones de P₄ durante los primeros 30 días de gestación fueron superiores a las obtenidas en yeguas de diversas razas (Terblanche y Maree, 1981; Kindahl y cols., 1982; Alegría y cols., 2001), PSI (Davies Morel, 2003) y criollas (Paredes y cols., 2012). Estos niveles plasmáticos de P₄ durante los primeros 30 días de preñez reflejan la correcta funcionalidad ovárica y del CL primario de gestación (Holtan y cols., 1975; Seren y cols., 1981; Pashen y Allen, 1984; Naber y cols., 1999; Ousey, 2004; Daels, 2006).

En el tercer mes de gestación las yeguas PRE mostraron valores similares a los obtenidos por Satué y cols. (2011) en yeguas de la misma raza, y superiores a los mostrados en yeguas PSI (Davis Morel, 2003) y criollas (Paredes y cols., 2012). La producción de P₄ indica la actividad secretoria del CL primario y de los CLs secundarios y accesorios, que siguen produciendo P₄ hasta el día 110 de la gestación (Terblanche y Maree, 1981; Alegría y cols., 2001). La P₄ juega un papel importante en el mantenimiento de la gestación, reduciendo la contractibilidad uterina por hiperpolarización miométrial debido a la disminución del número de uniones gap y receptores contráctiles del miometrio (Thorburn, 1993; Silver, 1994).

Tras los primeros 120 días de gestación en yeguas de la misma raza (Satué y cols., 2011), Árabes (Naber y cols., 1999) y PSI (Tsumagari y cols., 1991) se alcanzaron valores medios similares a los del presente estudio. A partir de este momento la producción de P₄ decae, alcanzando niveles indetectables (< 1 ng/ml) (Naber y cols., 1999; Ousey, 2004), de forma que el mantenimiento de la gestación se lleva a cabo mediante los progestágenos, metabolitos de la P₅ y en menor medida por la P₄, sintetizados a nivel placentario (Chavatte y cols., 1997; Daels, 2006). Por el contrario, la P₄ se incrementa al final de la gestación en ponies y yeguas gestantes de razas ligeras (Holtan y cols., 1991) y Lippizianas (Cebulj-Kadunc y cols., 2003). Las diferencias entre los resultados de los diversos estudios en relación a este

parámetro, en principio, podrían estar relacionadas con la metodología empleada en el análisis hormonal, a pesar de que en la actualidad, las técnicas para la determinación de P₄ circulante garantizan gran precisión, exactitud y elevadas correlaciones entre ellas. Sin embargo, no puede descartarse la influencia del carácter individual de la yegua, diferencias en el tamaño y vascularización del CL y los CLs, factores genéticos, ambientales y nutricionales, que comúnmente intervienen en la fisiología reproductiva en la yegua.

5.2.4.-FACTOR DE CRECIMIENTO PLACENTARIO

Los niveles plasmáticos de PIGF en la yegua PRE aumentaron significativamente durante los dos primeros de meses, alcanzando el valor medio máximo en el tercer mes de gestación. A partir del 4º mes y durante los 6 meses posteriores las concentraciones fueron decreciendo progresivamente, detectándose en el 10º mes el valor mínimo.

Durante la gestación se hace necesaria una constante remodelación vascular materno-placentaria para atender las necesidades de transporte de nutrientes, intercambio gaseoso y eliminación de los productos de desecho entre la madre y el feto (Krauss y cols., 2004; Torry y cols., 2007; Romero y cols., 2008). Se piensa que estos procesos están controlados por una combinación de hormonas esteroideas y factores de crecimiento producidos localmente, proporcionando los estímulos necesarios para el incremento de la actividad mitógena celular, momento en el que el alantocorion comienza a interdigitarse con el endometrio (Weitlauf, 1994; Alsat y cols., 1995).

En la mujer, el PIGF se expresa en la membrana vasculosincitial, en la túnica media de los grandes vasos y en las vellosidades trofoblásticas (De Falco, 2012). La expresión en las estructuras vasculares sugiere el papel angiogénico de dicho factor sobre las células endoteliales vasculares placentarias y la función del trofoblasto, utilizando vías para y autocrinas, respectivamente (Khaliq y cols., 1996). El PIGF parte de un valor inicial de 0,02-0,05 ng/ml en el primer periodo, se hace detectable a las 11-14 semanas e incrementa ininterrumpidamente durante el segundo trimestre hasta las 30 semanas de gestación (0,5 ng/ml) (Krauss y cols., 2004; Levine y Karumanchi, 2005; Ghosh y cols., 2012; Vrachnis y cols., 2013). A partir de este momento, los valores descendieron progresivamente hasta el final de la gestación (Tidwell y cols., 2001; Romero y cols., 2008). Como puede observarse, la dinámica en la yegua y los niveles alcanzados por este factor a lo largo de los 11 meses difieren completamente de los presentes en la mujer. Por tratarse de poblaciones fisiológicamente

normales en ambos casos, los autores sugieren una respuesta fisiológica distinta entre la mujer y la yegua en relación al comportamiento de este factor durante la preñez. En la mujer, este patrón se relaciona con la presencia de oxígeno a nivel del trofoblasto, observándose incremento de la expresión PIGF si el flujo sanguíneo placentario es correcto, y descenso, si se acompaña de isquemia placentaria (Sundrani y cols., 2013). De hecho, la hiperoxia e hipoxia aumenta y declina la expresión de dicho factor, respectivamente (Ahmed y cols., 2000).

Los procesos de diferenciación y desarrollo placentario están regulados por cambios en la expresión de los factores de crecimiento angiogénicos y de sus receptores (Lennard y cols., 1995; Abd-Elnaeim y cols., 2006; Allen y cols., 2007; Lefranc y Allen, 2007; Allen y Wilsher, 2009; Wilsher y Allen, 2012). La formación de la placenta incluye una extensa angiogénesis de los tejidos placentarios maternos y fetales, acompañada por un marcado incremento en el flujo sanguíneo uterino y umbilical. Estos eventos proporcionan un ambiente uterino óptimo al embrión/feto en desarrollo para atender las demandas metabólicas e incrementar la tasa de intercambio fisiológico entre madre y el feto. De hecho, la reducción en el desarrollo vascular de la placenta y el aumento en la resistencia vascular se asocian con mortalidad embrionaria temprana (Cerdeira y cols., 2012). El incremento exponencial del crecimiento fetal durante la última mitad de la gestación depende del crecimiento de la vascularización placentaria, que produce el apropiado flujo sanguíneo uterino y umbilical. El patrón de angiogénesis coincide con el incremento sustancial del flujo uterino y umbilical durante la gestación. En seres humanos, el crecimiento capilar conlleva un mecanismo bifásico, involucrando una fase inicial de angiogénesis ramificada, seguida de una fase de angiogénesis no ramificada. La angiogénesis ramificada, que consiste en la ramificación lateral de vasos preexistentes, forma una red capilar durante los primeros estadios de gestación, caracterizados por un ambiente hipóxico, lo cual favorece la expresión de VEGF-A. El incremento del flujo sanguíneo podría suponer un estrés oxidativo que alteraría las proteínas placentarias y los factores angiogénicos (Burton y Jauniaux, 2004; Vrachnis y cols., 2013). La existencia de un ambiente normóxico resultante de un correcto flujo uterino/umbilical durante el segundo trimestre de gestación, conlleva a la angiogénesis no ramificada, en la que se forma una red vascular de baja resistencia que conforma las vellosidades especializadas en el intercambio de gases entre la circulación materna y fetal (Gourvas y cols., 2012; Vrachnis y cols., 2013).

El desarrollo vascular placentario en la yegua es también bifásico, iniciándose durante la primera mitad de la gestación con la formación de una compleja red capilar ramificada en las vellosidades coriónicas, que se transforma en capilares elongados no ramificados durante la

segunda mitad de la gestación (Abd-Elnaeim y cols., 2006; Allen y cols., 2007). No obstante, el patrón de secreción del PIGF en la yegua PRE presenta niveles plasmáticos superiores durante los primeros 5 meses de gestación respecto a los 6 últimos. Las diferencias entre los perfiles de PIGF entre la mujer y la yegua podrían estar relacionadas con el tipo de placentación. La mujer presenta una placenta hemocorial difusa, en la que la invasión del trofoblasto en el espacio materno es crucial para que el feto reciba un aporte de nutrientes óptimo (Vrachnis y cols., 2013), si bien, en la placenta epitelocorial no invasiva de la yegua, una pequeña porción del trofoblasto (banda coriónica), invade el endometrio entre los días 25 y 35 de gestación para formar los cálices endometriales (Allen y cols., 2007). El componente no invasivo del trofoblasto empieza a formar interdigitaciones con el endometrio que irán aumentando en tamaño y profundidad para culminar con la formación de los microplacentomas alrededor de los 120 días de gestación. Dichas estructuras se componen de capilares fetales y maternos a través de los cuales tiene lugar el intercambio de gases, nutrientes y sustancias de desecho entre la madre y el feto (Allen, 2001; Allen y cols., 2007).

Algunas investigaciones en la yegua han puesto de manifiesto el papel de los factores de crecimiento en el inicio de la formación de dichas interdigitaciones placentarias, como el factor de crecimiento epidérmico (EGF) (Stewart y cols., 1994; Lennard y cols., 1998; Atli y cols., 2012; Allen y cols., 2017). Las células epiteliales que recubren las porciones apicales de las glándulas endometriales expresan dicho factor a los 35 o 40 días post-ovulación coincidiendo con el inicio de las interdigitaciones entre el alantocorion y el endometrio para formar la placenta microcotiledonaria (Lefranc y Allen, 2007), y continúan expresándose hasta el día 250 de gestación (Lennard y cols., 1998). Este factor proporciona un estímulo mitógeno necesario para la placentación, si bien, su expresión se ve reducida en yeguas con endometriosis (Gerstenberg y cols., 1999).

El (VEGF) y sus receptores (VEGFR-1, VEGFR-2) se localizan en las células trofoblásticas invasivas de los cálices endometriales y en el trofoblasto no invasivo del alantocorion, representando el suministro constante del factor vasculogénico y angiogénico necesario para el desarrollo continuo de las extensas redes capilares fetales y maternas dentro de los microplacentomas de la placenta epitelial (Allen y cols., 2007). El factor de crecimiento transformante β -1 (TGF β -1) también se expresa en las células epiteliales glandulares y luminales endometriales a partir de los 33 días de gestación, coincidiendo con la implantación (33-45 días) hasta los 150 días. Este factor también se encuentra en las células mononucleares en la periferia de las células trofoblásticas especializadas de los cálices endometriales y

estroma endometrial, regulando el crecimiento y diferenciación del endometrio y/o trofoblasto durante la placentación y el desarrollo fetal en etapas posteriores de la gestación (Lennard y cols., 1995). Aunque el NO es otro de los factores implicados en la vascularización tisular mediante estimulación de la dilatación y permeabilidad de los vasos sanguíneos (Silva y cols., 2011), los estrógenos también aumentan el flujo sanguíneo uterino a través de la unión a sus receptores en la pared de la arteria uterina, y especialmente en el endotelio de la misma (Albrecht y cols., 2003).

En conocimiento de los autores, no existe documentación científica en la yegua acerca de la expresión del PIGF en la placenta, si bien, el incremento plasmático de este factor durante los primeros 5 meses de gestación podría sugerir su intervención en la formación de los cálices endometriales y la placentación. Al igual que los factores de crecimiento anteriormente descritos, las propiedades angiogénicas atribuidas al PIGF podrían haber contribuido a la formación de la vasculatura desarrollada alrededor de cada uno de los cálices endometriales para optimizar el transporte de eCG al torrente sanguíneo, además del desarrollo de la red vascular en las interdigitaciones placentarias, en las que tiene lugar el intercambio gaseoso y de nutrientes entre la madre y el feto. La ausencia de correlaciones entre dicho factor y las hormonas placentarias, sugiere que su actividad es independiente de la síntesis hormonal, por lo que se necesitarían futuras investigaciones para determinar el origen de estas modificaciones en la yegua.

Diversos estudios han mostrado descenso de los niveles de PIGF en el primer (Tidwell y cols., 2001; Akolekar y cols., 2008) y segundo trimestre de la gestación (Su y cols., 2001; Tjoa y cols., 2001; Taylor y cols., 2003) en mujeres que posteriormente desarrollan preeclampsia (Torry y cols., 1998; Reuvekamp y cols., 1999). De forma inversa, la elevación de PIGF durante el primer trimestre exhibe un menor riesgo de desarrollar preeclampsia (Smith y cols., 2007). No obstante, aunque los niveles de PIGF entre mujeres fisiológicamente normales y con retraso en el crecimiento intrauterino no son estadísticamente diferentes (Thadhani y cols., 2004), la mayoría de investigaciones han revelado valores significativamente inferiores en el segundo grupo (Erez y cols., 2008; Poon y cols., 2008; Cowans y cols., 2010). Estos hallazgos, unido a la implicación del PIGF en el desarrollo vascular placentario refuerzan la hipótesis de que el crecimiento fetal, y el peso al nacimiento están relacionados con el desarrollo placentario durante el primer trimestre (Cowans y cols., 2010). A pesar de ello, existe cierta controversia acerca de si la alteración en los niveles de PIGF son la causa o la consecuencia de la enfermedad, y si además su descenso es debido a la menor producción y/o a la inhibición

ejercida por el receptor VEGFR en su forma soluble (Andraawera y cols., 2012). De hecho, aunque la isquemia uteroplacentaria causa descenso de PIGF (Romero y cols., 2008), no se conoce si se trata de factor primario o secundario ya que las alteraciones placentarias que cursan con hipoxia, favorecen la síntesis de factores solubles relacionados con disfunción endotelial y preeclampsia (Karumanchi y Bdolah, 2004). Así, en situaciones de preeclampsia la placenta libera un exceso de sFlt-1, bloqueando la actividad del PIGF y el VEGF-1 (Roskoski, 2007; Romero y cols., 2008). Tomando en consideración estas evidencias, el análisis del PIGF es una herramienta diagnóstica para predecir patologías placentarias tempranas (Tjoa y cols., 2001; Poon y cols., 2008; Texeira y cols., 2008; Ghosh y cols., 2012), por tratarse de procesos que pueden iniciarse durante el primer trimestre de gestación (Vrachnis y cols., 2013).

En la mujer, la restricción en el crecimiento intrauterino acompañado o no de preeclampsia se identifica por una insuficiente invasión trofoblástica y remodelación de las arterias espirales restringida a la decidua superficial (Sheppard y Bonnar, 1999; Tjoa y cols., 2001), hipoperfusión, hipoxia e isquemia placentaria (Cowans y cols., 2010; Vrachnis y cols., 2013). Estos hechos posiblemente estén relacionados con cambios degenerativos endometriales asociados a la edad en la yegua en relación al desarrollo del microplacentoma, así como en la extensión e intimidad de contacto en la interfase maternofetal (Abd-Elnaeim y cols., 2006). Estos procesos conllevan a la secreción de factores antiangiogénicos que incluyen la forma soluble del receptor VEGFR-1, que secuestra el PIGF y VEGF y evita su unión a los receptores transmembrana (Maynard y cols., 2003; Romero y cols., 2008; Vrachnis y cols., 2013). Por este motivo, numerosas complicaciones gestacionales, principalmente preeclampsia, retraso en el crecimiento intrauterino y nacimiento de fetos pequeños para su edad gestacional, se acompañan de niveles anormales de PIGF (Torry y cols., 2004).

5.2.5.-HORMONAS ADRENALES

5.2.5.1.-CORTISOL

Los valores medios de CORT en las yeguas gestantes PRE fueron similares a los presentados en yeguas de la misma raza (Satué y cols., 2007; 2011), 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; Fazio y cols., 2009) y Árabes (Gill y cols., 1985) durante el mismo periodo reproductivo. Aunque el pico de cortisolemia fue similar en yeguas de la misma raza (Satué y cols., 2011), en PSI se alcanzó en el 8º mes de

gestación (Fazio y cols., 2009) con niveles medios inferiores a los obtenidos en las yeguas de este estudio. Dichos resultados en la yegua PSI pertenecientes al mes de mayo confirman los elevados niveles de CORT en yeguas gestantes durante las estaciones de primavera y verano (Flisinska-Bojanowska y cols., 1991, b). Como apuntaron Satué y cols. (2011), la gestación es un factor adicional que puede modificar el ciclo estacional y circannual del CORT en la yegua.

La elevada cortisolemia mantenida durante los primeros 5 meses de gestación podría estar relacionada con el periodo de lactación intensa en la yegua (Satué y cols., 2011). Modificaciones similares han sido descritas en otras razas equinas, como Standardbred (Flisinska-Bojanowska y cols., 1991, b; Gill y cols., 1994), PSI (Tsumagari y cols., 1991) y árabes (Gill y cols., 1985). La gestación altera significativamente el metabolismo de los sustratos en la madre para atender las demandas fetales. La demanda de CORT está estrechamente relacionada con el grado de actividad metabólica (Boden, 1996). A tal fin, el metabolismo de los carbohidratos se incrementa debido a las mayores exigencias para la producción de la leche (Evans, 1971; Neuschaefer y cols., 1991). Sin embargo, no todos los investigadores apoyan estas hipótesis (Hoffsis y cols., 1970).

Algunas investigaciones en yeguas han mostrado elevación de la cortisolemia al final de la preñez (Lumsden y cols., 1980; Hoffman y cols., 2003). Estos resultados confirman los obtenidos previamente en la mujer (Cousins y cols., 1983; Scott y cols., 1990; Lindsay y Nieman, 2005) y se atribuyen a la estimulación ejercida por los estrógenos placentarios sobre la producción hepática de CBG, disminución de los niveles biológicamente activos de CORT e incremento compensatorio de ACTH y la cortisolemia (Scott y cols., 1990; Lindsay y Nieman, 2005), ya que las adrenales maternas presentan mayor sensibilidad a la ACTH en este periodo (Jailer y cols., 1959; Johnstone y Campbell, 1974; Lindsay y Nieman, 2005).

Sin embargo, en las yeguas de este estudio se verificó un descenso de CORT a partir del 5º mes que corrobora parcialmente los resultados aportados por Flisinska-Bojanowska y cols. (1991, b) y Gill y cols. (1994) y ampliamente, los descritos por Fazio y cols. (2009). De hecho, el descenso fue más temprano en los estudios de Flisinska-Bojanowska y cols. (1991, b) y Gill y cols. (1994). No obstante, en yeguas PSI, Fazio y cols. (2009) mostraron una elevación de la cortisolemia en el 8º mes de gestación, relacionada con el aumento de progestágenos maternos dependiente del incremento de actividad adrenocortical fetal (Rossdale y cols., 1992; Fazio y cols., 2009).

En yeguas de la misma raza, Satué y cols. (2011) mostraron aumento de P_4 durante el segundo y tercer mes, seguido de un descenso significativo, alcanzando el valor medio mínimo durante el 5º y 6º mes, sin modificaciones posteriores. Aunque Allolio y cols. (1990) hallaron correlaciones altamente significativas entre los niveles de P_4 y CORT ($r=0,70$) al final de la gestación en la mujer, en la yegua, Tsumagari y cols. (1991) revelaron una relación inversa entre la P_4 y el CORT al final de la gestación. Esta interrelación sugiere que los elevados niveles de CORT durante este periodo podrían estar asociados con la resistencia a los glucocorticoides debido al efecto antiglucocorticoideo de la P_4 (Karalis y cols., 1996; Guo y cols., 2009). La P_4 se une a las proteínas de unión al CORT induciendo un mecanismo de protección del feto ante la activación prematura del proceso de parto producida por el incremento de la cortisolemia materna (López y cols., 2012). Sin embargo, la ausencia de correlaciones entre ambos esteroides ($r=-0,02$) en la yegua PRE al igual que Satué y cols (2011) no logró confirmar estadísticamente este mecanismo fisiológico.

Adicionalmente, Nagel y cols. (2012) revelaron un incremento materno de CORT cuatro días previos al parto. De forma simultánea, la sensibilidad adrenocortical a la ACTH y la síntesis de CORT aumentan en el feto. Esta respuesta es de vital importancia para la maduración de los órganos fetales (Liggins, 1994). Estos hechos, unidos a la capacidad del CORT para difundir a través de la placenta (Nathanielsz y cols., 1975) sugieren que las variaciones en la cortisolemia al final de la gestación están influenciadas por la actividad adrenocortical fetal. De hecho, la glándula adrenal fetal únicamente es capaz de transformar la P_5 en CORT después del día 310 de gestación una vez que se expresan las enzimas esteroidogénicas necesarias para la conversión (Ousey, 2004; Ousey y cols., 2005; Fazio y cols., 2011). Sin embargo, ni en el estudio de Fazio y cols. (2009) ni en la presente investigación se detectaron niveles plasmáticos superiores de CORT materno durante el último mes de gestación, probablemente debido al patrón temporal de las venipunciones.

Por otro lado, Fazio y cols. (2009) establecieron una relación significativa y negativa entre la cortisolemia y los estrógenos, cuyos niveles se incrementan entre el tercer y octavo mes de gestación de forma sincrónica al descenso de CORT. La DHEA fetal es aromatizada en la placenta a estrógenos fenólicos, E_1S y $E_2 17\alpha$ y β (Pashen y cols., 1982; Fowden y cols., 2008). Aunque la actividad biológica no ha sido determinada, estos esteroides regulan del flujo sanguíneo uterino y placentario, y la síntesis y almacenamiento de precursores de PG en el endometrio y miometrio (Pashen y Allen, 1979; Allen, 2005). La DHEA procede de las gónadas fetales por lo que el perfil mostrado por los estrógenos maternos evoluciona según el

crecimiento y regresión de las células intersticiales, alcanzando niveles máximos alrededor de los 200 días de gestación (Pashen, 1984; Fowden y cols., 2008). En la mujer, el CORT materno puede alterar la funcionalidad hipofisaria-adrenal fetal y la producción de DHEA fetal (Patrick y cols., 1980; Darne y cols., 1989), observándose un descenso de estrógenos tras la administración de CORT a dosis superiores a las fisiológicas (Beitins y cols., 1973; Simmer y cols., 1974; Darne y cols., 1989). Sin embargo, en la yegua PRE estos parámetros no están correlacionados ($r=0,05$), como previamente documentaron Satué y cols. (2011) en yeguas de la misma raza.

Al igual que la mujer, la yegua se vuelve resistente a la insulina durante la gestación tardía (Hoffman y cols., 2003; George y cols., 2011) debido a los efectos antiinsulínicos del CORT, GH y hormona del crecimiento placentaria (GHp) (Yen, 1991) así como a las modificaciones funcionales de las células β pancreáticas (Fowden y cols., 1984). Los efectos anti-insulínicos de estas hormonas inhiben la entrada de glucosa a las células, la síntesis de glucógeno, glucolisis, lipogénesis y activan la glucogenolisis y proteólisis muscular. Estas acciones tienen como finalidad incrementar las concentraciones plasmáticas de glucosa, conservarlas para su consumo por órganos como el cerebro, y mejorar la transferencia materna y placentaria de glucosa para satisfacer las demandas impuestas por el desarrollo fetal (Fowden y cols., 2005).

En base a los resultados alcanzados en el estudio se puede afirmar que la preñez altera significativamente la actividad de los ejes SA e HH en la yegua PRE. El inicio de la gestación representa un incremento fisiológico de las concentraciones de ADR, NORADR, DA y ACTH. Hacia la mitad de la gestación, se establece un pico en NORADR, 5-HT, DA, GH, IGF-1 y CORT, mientras que la gestación tardía constituye un periodo caracterizado por el descenso de NORADR, DA, 5-HT, ACTH y GH e incremento de T. Aunque las concentraciones placentarias de A_4 , DHEA, E_1S y P_4 manifiestan una dinámica similar a la del PIGF, la ausencia de correlaciones entre ellos sugiere que en el origen de dicho factor deberían considerarse otros parámetros distintos a los esteroides considerados en la investigación.

CONCLUSIONES

6.-CONCLUSIONES

PRIMERA. A diferencia de lo que acontece en la mujer, la gestación incrementa significativamente la actividad del eje simpático-adrenal en la yegua PRE. Esta respuesta fisiológica está representada por el incremento de las concentraciones de adrenalina, noradrenalina y dopamina que unida a la serotonina, alcanzan el pico máximo de secreción hacia la mitad de la gestación, descendiendo progresivamente hacia el final de la preñez.

SEGUNDA. El incremento simultáneo de la secreción de ACTH y cortisol manifiesta el aumento de actividad del eje hipotalámico-hipofisario en la yegua gestante PRE. La ausencia de relación entre la ACTH y el cortisol podría sugerir un efecto feedback negativo ejercido por el cortisol sobre la secreción del factor hipotalámico liberador de corticotropina y ACTH hipofisaria, informando de los propios mecanismos de control de la cortisolemia en la gestante.

TERCERA. Aunque los componentes del eje somatotropo, hormona del crecimiento e IGF-1 evolucionan simultáneamente durante los cinco primeros meses de gestación, ambos parámetros se disocian durante el último periodo. La ausencia de correlación entre ambos parámetros indica que la hormona del crecimiento no es el único factor inductor de la síntesis de IGF-1, por lo que otros factores locales, sistémicos o metabólicos podrían estar implicados en esta respuesta.

CUARTA. Si bien las concentraciones placentarias de A_4 , DHEA, E_1S y P_4 manifiestan una dinámica similar a la del PIGF, estos factores no están relacionados estadísticamente, por lo que en el origen de dicho factor deberían considerarse otros parámetros biológicos u hormonales de naturaleza no esteroidea.

QUINTA. A diferencia de la mujer y otras especies animales en las que mayoritariamente la P_4 y el E_1S se consideran los principales reguladores de la secreción de catecolaminas, dopamina, hormona del crecimiento e IGF-1, la falta de relación entre estos parámetros parece indicar

que la secreción hipotalámica hipofisaria adrenal es independiente del patrón de secreción de hormonas esteroideas en la yegua gestante PRE.

SEXTA. Aunque la T y la A₄ y la A₄ y DHEA presentan interacciones esteroideas y mecanismos de regulación similares entre la glándula adrenal y el ovario para la síntesis de andrógenos durante la gestación, las bajas correlaciones entre ellos podrían sugerir la intervención de otros factores como, alteraciones para la detección debido a la rápida aromatización a estrógenos a nivel placentario o una mayor tasa de aclaramiento metabólico.

SÉPTIMA. A diferencia de lo que acontece en otras especies en las que la síntesis de cortisol se asocia con la elevación de la actividad simpática, la falta de concordancia entre esta hormona y la adrenalina y noradrenalina descartan al cortisol como posible inductor de la síntesis de catecolaminas durante la gestación en la yegua PRE gestante.

RESUMEN

7.-RESUMEN

ESTUDIO LONGITUDINAL DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE NEUROTRANSMISORES, FACTOR DE CRECIMIENTO PLACENTARIO E IGF-1 Y SU INTERACCIÓN CON HORMONAS DE ORIGEN HIPOFISARIO, PLACENTARIO Y ADRENAL DURANTE LA GESTACIÓN EN LA YEGUA PURA RAZA ESPAÑOLA

El óptimo crecimiento fetal depende de la eficiente función placentaria. El factor de crecimiento placentario (PIFG) favorece la angiogénesis y vascularización de la placenta, asegurando el efectivo flujo sanguíneo placentario esencial para mantener el transporte activo de moléculas y la síntesis de hormonas esteroideas. Por otro lado, los componentes del eje somatotropo (GH e IGF-1), la ACTH, el CORT y las catecolaminas influyen notablemente sobre el desarrollo placentario y el crecimiento fetal. 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 de referencia para las concentraciones de neurotransmisores (ADR, NORADR, 5-HT y DA), hormonas hipofisarias (ACTH y GH), placentarias (A₄, DHEA, T, E₁S y P₄), adrenales (CORT) y PIFG e IGF-1 en yeguas gestantes sanas; 2) Examinar si la gestación en la yegua PRE induce modificaciones laboratoriales en las dinámicas de los componentes anteriormente descritos, y 3) Analizar si los cambios hormonales de GH, ACTH, andrógenos, E₁S y P₄ están implicados fisiológicamente en las modificaciones analíticas que experimentan los diversos neurotransmisores y ambos factores de crecimiento en la yegua gestante PRE.

Se ha estudiado un total de 33 yeguas PRE con edades comprendidas entre 5 y 17 años, durante la gestación. Se obtuvieron muestras de sangre venosa por las mañanas con una frecuencia mensual. Las muestras fueron almacenadas en tubos de vidrio con activadores de la coagulación y gránulos PS para desuerado. Las concentraciones séricas de ADR, NORADR, DA y 5-HT fueron determinadas mediante técnicas inmunoenzimáticas (EIA) de competición validadas específicamente para la especie equina (*3-Cat EIA; Demeditec, Diagnostics GmbH, Germany; Serotonin-EIA; Demeditec, Diagnostics GmbH, Germany*). La cuantificación de ACTH y GH fue realizada utilizando EIA de competición estreptavidina-biotina (*Phoenix peptide ACTH human Fluorescent Immunoassay Kit FEK-001-01*). Los niveles de IGF-1 se analizaron mediante ELISA de competición (*DRG® International Inc, IGF-1 equino, EIA-3982, USA*). La detección del

PIGF se realizó utilizando EIA de tipo sandwich (*Demeditec DEE01*). Las concentraciones de A₄, T, DHEA, E₁S, P₄ y CORT fueron determinadas mediante técnicas EIA utilizando anticuerpos policlonales obtenidos y caracterizados en el Departamento de Fisiología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

El inicio de la gestación representa un incremento fisiológico de las concentraciones de ADR, NORADR, DA, P₄ y ACTH. Esta elevación de las catecolaminas ADR y NORADR alcanza un pico de secreción máximo simultáneo al incremento de 5-HT, GH, IGF-1, A₄, DHEA, E₁S y CORT hacia la mitad de la gestación. La preñez tardía constituye un periodo caracterizado por el descenso de NORAD, DA, 5-HT, ACTH y GH e incremento de T. A diferencia de la mujer y otras especies animales en las que mayoritariamente la P₄ y el E₁S se consideran los principales reguladores de la secreción hipotalámica de NORADR e hipofisaria de GH, la falta de relación entre dichos parámetros sugiere que la síntesis de NORADR, GH e IGF-1 es independiente de la dinámica esteroidea durante la gestación. Aunque las concentraciones de A₄, DHEA, T, E₁S y P₄ muestran un patrón similar al PIFG, la expresión y la síntesis de este factor parecen no estar sometidas a control hormonal de origen placentario.

En conclusión, la gestación representa el incremento fisiológico de la actividad de los ejes simpático-adrenal, hipotalámico-hipofisario y somatotropo en la yegua PRE. Los factores y hormonas integrantes en estos ejes junto a las hormonas placentarias y el PIGF podrían ser considerados como marcadores predictivos de funcionalidad placentaria y del avance correcto de la gestación.

PALABRAS CLAVE. ACTH. Andrógenos. Cortisol. Factor de crecimiento placentario. GH. IGF-1. Neurotransmisores. Progesterona. Sulfato de estrona. Yegua gestante.

SUMMARY

8.-SUMMARY

LONGITUDINAL STUDY OF THE NEUROTRANSMITTERS, PLACENTARY GROWTH FACTOR AND IGF-1 CONCENTRATIONS AND ITS INTERACTION WITH HORMONES OF HYPOPHYSARY, PLACENTARY AND ADRENAL ORIGIN DURING PREGNANCY IN SPANISH PUREBRED BROODMARE

The optimal fetal growth depends on the efficient placental function. Placental growth factor (PIFG) favors angiogenesis and vascularization of the placenta, ensuring effective placental blood flow, essential to maintain active transport of molecules and synthesis of steroid hormones. The components of the somatotrope (GH and IGF-1), ACTH, CORT and catecholamines strongly influence on development of the placenta fetal growth. However, these mechanisms remain unknown in the mare. For this reason, the objectives of the present research were: 1) To establish reference values for neurotransmitter concentrations (ADR, NORADR, 5-HT and DA), pituitary hormones (ACTH and GH), placental (DHEA, T, E₁S and P₄), adrenals (CORT), PIFG and IGF-1 in healthy pregnant mares; 2) Examine whether gestation in the Spanish Purebred mare induces laboratorial modifications in the dynamics of the previously described components, and 3) Analyze whether the hormonal changes of GH, ACTH, androgens, E₁S and P₄ are physiologically involved in the analytical modifications experienced by the several neurotransmitters and both growth factors in the Spanish Purebred broodmares.

A total of 33 Spanish Purebred broodmares with ages between 5 and 17 years, during gestation have been analyzed. Venous blood samples were collected in the mornings on a monthly frequency. Samples were stored in glass tubes with coagulation activators and PS granules to obtaining serum. Serum concentrations of ADR, NORADR, DA and 5-HT were determined using competition immunoenzymatic techniques (EIA) specifically validated for equine species (*3-CAT EIA, Demeditec, Diagnostics GmbH, Germany, Serotonin-EIA, Demeditec, Diagnostics GmbH, Germany*). Quantification of ACTH and GH was performed using streptavidin-biotin competition EIA (*Phoenix peptide ACTH human Fluorescent Immunoassay Kit FEK-001-01*). IGF-1 levels were analyzed by competition ELISA (*DRG® Internationallnc, equine IGF-1, EIA-3982, USA*). Detection of PIGF was performed using sandwich EIA (*Demeditec DEE01*). The concentrations of A₄, DHEA, T, E₁S, P₄ and CORT were determined using EIA

techniques using polyclonal antibodies obtained and characterized in the Department of Physiology of the Faculty of Veterinary of the Complutense University of Madrid.

The onset of gestation represents a physiological increase on ADR, NORADR, DA, P₄ and ACTH concentrations. This elevation on catecholamines ADR and NORADR reaches a peak of maximal secretion simultaneously with the increase of 5-HT, GH, IGF-1, A₄, DHEA, E₁S and CORT towards the middle of gestation. Late pregnancy is a period characterized by the decrease of NORAD, DA, 5-HT, ACTH and GH and increase of T. Unlike women and other animal species in which P₄ and E₁S are considered the main regulators of NORADR hypothalamic and GH pituitary secretion, the lack of relationship between these parameters suggests that the synthesis of NORADR, GH and IGF-1 is independent of the steroid dynamics during pregnancy. Although the concentrations of A₄, DHEA, T, E₁S and P₄ show a pattern similar to PIFG, the expression and synthesis of this factor appear not to be subject to placental hormonal control.

In conclusion, gestation represents the physiological increase of the activity of the sympathetic-adrenal, hypothalamic-pituitary and somatotrope axes in the PRE mare. Factors and hormones in these axes together placental hormones and PIGF could be considered as predictive markers of placental function and correct progression of gestation.

KEYWORDS. ACTH. Androgens. Cortisol. Estrone sulphate. GH. IGF-1. Neurotransmitter. Placental growth factor. Pregnant mare. Progesterone.

BIBLIOGRAFÍA

9.-BIBLIOGRAFIA

- Abbassi-Ghanavati, M.; Greer, L.G.; Cunningham, F.G. (2009). Pregnancy and laboratory studies. *Obstet. Gynecol.*, 114(6): 1326–1331.
- Abd-allah, N.M.; Hassan, F.H.; Esmat, A.Y.; Hammad, S.A. (2004). Age dependence of the levels of plasma norepinephrine, aldosterone, renin activity and urinary vanillylmandelic acid in normal and essential hypertensives. *Biol. Res.*, 37: 95–106.
- Abd-Elnaeim, M.M.; Leiser, R.; Wilsher, S.; Allen, W.R. (2006). Structural and haemovascular aspects of placental growth throughout gestation in young and aged mares. *Placenta*, 27(11–12): 1103–1113.
- Abo El-Maaty, A. M.; El Sisy, G.A.; Shaker, M.H.; Ezzo, O.H. (2014). Age-related rump fat, fat percent, body fat mass, leptin, androgens and semen parameters of Arab stallions. *Asian Pacific J. Reprod.*, 3(3): 184–191.
- Abo El-Maaty, A.; Fawzia, Y.H.S.; Faten, I.G. (2012). Antioxidants markers, trace minerals and steroid hormones in preconceptual arab mares. *Global Vet.*, 9(3): 311–318.
- Abo El-Maaty, A.M.; Fawzia, Y.H.S.; Faten, I.G.; Manal, B-E.M. (2013). Leptin, Insulin Like growth factor-I, Nitric oxide, thyroid and ovarian hormones in serum of early pregnant and cyclic Arab mares with or without clinical endometritis. *Int. Sci. Investigation. J.*, 2(4): 1-5.
- Abo El-Maaty, A.M.; Kotp, M.S.; El-Tohamy, M.M.; El Natat, W.S.; Mohamed, A.H. (2015). Role of leptin and insulin like growth factor-I in breeding Egyptian horses along the year. *J. Med. Biol. Sci. Res.*, 1(10): 169-178.
- Adams, N.R.; DeMayo, F.J. (2015). The role of steroid hormone receptors in the establishment of pregnancy in rodents. *Adv. Anat. Embryol. Cell. Biol.*, 216: 27–49.
- Adini, A.; Kornaga, T.; Firoozbakht, F.; Benjamin, L.E. (2002). Placental growth factor is a survival factor for tumor endothelial cells and macrophages. *Cancer Res.*, 62(10): 2749–2752
- Aguilera G. (1998). Corticotropin releasing hormone, receptor regulation and the stress response. *Trends Endocrinol. Metab.*, 9(8): 329–336.
- Ahern, G.P. (2011). 5-HT and the immune system. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 11(1): 29–33.
- Ahlman, H.; Bhargava, H.N.; Donahue, P.E.; Newson, B.; Das Gupta, T.K.; Nyhus, L.M. (1978). The vagal release of 5-hydroxytryptamine from enterochromaffin cells in the cat. *Acta Physiol. Scand.*, 104(3): 262–270.
- Ahmed, A.; Dunk, C.; Ahmad, S.; Khaliq, A. (2000). Regulation of placental vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PIGF) and soluble Flt-1 by oxygen-a review. *Placenta*, 21 (Suppl. A): S16-S24.
- Akolekar, R.; Zaragoza, E.; Poon, L.C.Y.; Pepes, S.; Nicolaides, K.H. (2008). Maternal serum placental growth factor at 11 + 0 to 13 + 6 weeks of gestation in the prediction of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 32(6): 732–739.
- Alberghina, D.; Amorini, A.M.; Lazzarino, G. (2011). Modulation of peripheral markers of the serotonergic system in healthy horses. *Res. Vet. Sci.*, 90(3): 392–395.
- Alberghina, D.; Campo, S.; Campo, G.M.; Bruschetta, G.; Federica, D.G.; Ferlazzo, A.M. (2005). Plasma levels of serotonin, tryptophan and cortisol in foal before and after weaning. En: *Proceedings of the Italian Society of Veterinary Sciences, Viareggio, Lucca*, pp. 91-92.
- Alberghina, D.; Giannetto, C.; Piccione, G. (2010a). Peripheral serotonergic

- response to physical exercise in athletic horses. *J. Vet. Sci.*, 11(4): 285-289.
- Alberghina, D.; Giannetto, C.; Rizzo, M.; Panzera, M.; Piccione, G. (2015). Plasma serotonin in horses: comparison between two different management conditions. *J. Biol. Res.*, 88(5161): 125-126.
- Alberghina, D.; Giannetto, C.; Visser, E.K.; Ellis, A.D. (2010b). Effect of diet on plasma tryptophan and serotonin in trained mares and geldings. *Vet. Rec.*, 166(5): 133–136.
- Alberghina, D.; Panzera, M.; Giannetto, C.; Piccione, G. (2014). Developmental changes during the first year of life in plasma tryptophan concentration of the foal. *J. Equine Vet. Sci.*, 34(3): 387–390.
- Albrecht, B.A.; MacLeod, J.N.; Daels, P.F. (2000). Differential expression of steroidogenic enzymes by the primary corpora lutea of pregnant mares during equine chorionic gonadotrophin secretion. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, (56): 627–634.
- Albrecht, B.A.; MacLeod, J.N.; Daels, P.F. (2001). Expression of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase, cytochrome P450 17 α -hydroxylase/17,20-lyase and cytochrome P450 aromatase enzymes in corpora lutea of diestrous and early pregnant mares. *Theriogenology*, 55(2): 551–561.
- Albrecht, B.A.; MacLeod, J.N.; Daels, P.F. (1997). Differential transcription of steroidogenic enzymes in the equine primary corpus luteum during diestrus and early pregnancy. *Biol. Reprod.*, 56(4): 821–829.
- Albrecht, E.D.; Aberdeen, G.W.; Niklaus, A.L.; Babischkin, J.S.; Suresch, D.L.; Pepe, G. (2003). Acute temporal regulation of vascular endothelial growth/ permeability factor expression and endothelial morphology in the baboon endometrium by ovarian steroids. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 88(6): 2844–2852.
- Al-Damluji, S. (1993). Adrenergic control of the secretion of anterior pituitary hormones. *Baillieres Clin. Endocrinol. Metab.*, 7(2): 355-392.
- Aldrich, S.L.; Berger, L.L.; Kesler, D.J.; Nash, T.G.; McCusker, R.H. Jr. (1996). Effects of prenatal androgenization and postnatal steroid treatment on growth hormone, insulin-like growth factor I and II, insulin, thyroxine, and triiodothyronine concentrations in beef heifers. *J. Anim. Sci.*, 74(2): 420-428.
- 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).
- Alexander, B.T.; Bennet, W.A.; Khalil, R.A.; Granger, J.P. (2001). Preeclampsia: Linking placental ischemia with cardiovascular-renal dysfunction. *News Physiol. Sci.*, 16: 282-286.
- 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. (2002). The effect of endotoxin administration on the secretory dynamics of oxytocin in follicular phase mares: relationship to stress axis hormones. *J. Neuroendocrinol.*, 14(7): 540–548.
- Alexander, S.L.; Irvine, C.H.; Donald, R.A. (1996). Dynamics of the regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis determined using a nonsurgical method for collecting pituitary venous blood from horses. *Front. Neuroendocrinol.*, 17(1): 1-50.
- Alexander, S.L.; Irvine, C.H.; Ellis, M.J.; Donald, R.A. (1991). The effect of acute exercise on the secretion of corticotropin-releasing factor, arginine vasopressin, and adrenocorticotropin as measured in pituitary venous blood from the horse. *Endocrinology*, 128(1): 65–72.

- Alexander, S.L.; Irvine, C.H.; Livesey, J.H.; Donald, R.A. (1988). Effect of isolation stress on concentrations of arginine vasopressin, alpha-melanocyte-stimulating hormone and ACTH in the pituitary venous effluent of the normal horse. *J. Endocrinol.*, 116(3): 325–334.
- Alexander, S.L.; Roud, H.K.; Irvine, C.H. (1997). Effect of insulin-induced hypoglycaemia on secretion patterns and rates of corticotrophin-releasing hormone, arginine vasopressin and adrenocorticotrophin in horses. *J. Endocrinol.*, 153(3): 401–409.
- Alford, P.; Geller, S.; Richardson, B.; Slater, M.; Honnas, C.; Foreman, J.; Robinson, J.; Messer, M.; Roberts, M.; Goble, D.; Hood, D.; Chaffin, M. (2001). A multicenter, matched case-control study of risk factors for equine laminitis. *Prev. Vet. Med.*, 49(3-4): 209-222.
- Al-Gubory, K.H.; Bolifraud, P.; Kann, G.; Soulier, C. (1999). The secretory patterns of growth hormone in pregnant and hysterectomized ewes. *Eur. J. Endocrinol.* 141(1): 83–89.
- Alila-Johansson, A.; Eriksson, L.; Soveri, T.; Laakso, M.L. (2003). Serum cortisol levels in goats exhibit seasonal but not daily rhythmicity. *Chronobiol. Int.*, 20(1): 65–79.
- Allen, W.R. (2001). Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reproduction*, 121(4): 513-527.
- Allen, W.R. (2005). Maternal recognition and maintenance of pregnancy in the mare. *Anim. Reprod.* 2(4): 209-223.
- Allen, W.R.; Gowe, S.; Wilsher, S. (2007). Immunohistochemical localization of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its two receptors (Flt-1 and KDR) in the endometrium and placenta of the mare during the oestrous cycle and pregnancy. *Reprod. Domest. Anim.*, 42(5): 516-526.
- Allen, W.R.; Stewart, F. (2001). Equine placentation. *Reprod. Fertil. Dev.*, 13: 623–634.
- Allen, W.R.; Wilsher, S. (2009). A review of implantation and early placentation in the mare. *Placenta*, 30: 1005–1015.
- Allen, W.R.; Gower, S.; Wilsher, S. (2017). Localisation of epidermal growth factor (EGF), its specific receptor (EGF-R) and aromatase at the materno-fetal interface during placentation in the pregnant mare. *Placenta*, 50: 53-59.
- Allolio, B.; Hoffmann, J.; Linton, E.A.; Winkelmann, W.; Kusche, M.; Schulte, H.M. (1990). Diurnal salivary cortisol patterns during pregnancy and after delivery: relationship to plasma corticotrophin-releasing-hormone. *Clin. Endocrinol.* 33(2): 279-289.
- Almahbobi, G.; Papadopoulos, V.; Carreau, S.; Silberzahn, P. (1988). Age-related morphological and functional changes in the Leydig cells of the horse. *Biol. Reprod.*, 38(3): 653–665.
- Alsat, E.; Guibourdenche, J.; Couturier, A.; Evain-Brion, D. (1998). Physiological role of human placental growth hormone. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 140(1–2): 121–127.
- Alsat, E.; Guibourdenche, J.; Luton, D.; Frankenne, F.; Evain-Brion, D. (1997). Human placental growth hormone. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 177(6): 1526–1534.
- Alsat, E.; Marcotty, C.; Gabriel, R.; Igout, A.; Frankenne, F.; Hennen, G.; Evain-Brion, D. (1995). *Reprod. Fertil. Dev.*, 7(6): 1457-1464.
- Altemus, M.; Fong, J.; Yang, R.; Damast, S.; Luine, V.; Ferguson, D. (2004). Changes in cerebrospinal fluid neurochemistry during pregnancy. *Biol. Psychiatry*, 56(6): 386-392.
- Altinsaat, C.; Üner, A.G.; Sulu, N.; Ergün, A. (2009). Seasonal variations in serum concentrations of melatonin, testosterone, and progesterone in Arabian horse. *Ankara Univ. Vet. Fak. Derg.*, 56(1): 19–24.
- Alwan, S.; Friedman, J.M.; Chambers, C. (2016). Safety of selective serotonin reuptake inhibitors in pregnancy: A review

- of current evidence. *CNS Drugs*, 30(6): 499–515.
- Amano, A.; Tsunoda, M.; Aigaki, T.; Maruyama, N.; Ishigami, A. (2013). Age-related changes of dopamine, noradrenaline and adrenaline in adrenal glands of mice. *Geriatr. Gerontol. Int.*, 13(2): 490–496.
- Amireault, P.; Hatia, S.; Bayard, E.; Bernex, F.; Collet, C.; Callebort, J.; Launay, J.M.; Hermine, O.; Schneider, E.; Mallet, J.; Dy, M.; Côté, F. (2011). Ineffective erythropoiesis with reduced red blood cell survival in serotonin-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108(32): 13141–13146.
- Amireault, P.; Sibon, D.; Côté, F. (2013). Life without peripheral serotonin: insights from tryptophan hydroxylase 1 knockout mice reveal the existence of paracrine/autocrine serotonergic networks. *ACS Chem. Neurosci.*, 4(1): 64–71.
- Anderson, G.M.; Feibel, F.C.; Cohen, D.J. (1987). Determination of serotonin in whole blood, platelet-rich plasma, platelet-poor plasma and plasma ultrafiltrate. *Life Sci.*, 40(11): 1063–1070.
- Andraweera, P.H.; Dekker, G.A.; Laurence, J.A.; Roberts, C.T. (2012). Placental expression of VEGF family mRNA in adverse pregnancy outcomes. *Placenta*, 33(6): 467–472.
- Andraweera, P.H.; Dekker, G.A.; Roberts, C.T. (2012). The vascular endothelial growth factor family in adverse pregnancy outcomes. *Hum. Reprod. Update*, 18(4): 436–457.
- Andres, A.H.; Rao, M.L.; Ostrowitzki, S.; Entzian, W. (1993). Human brain cortex and platelet serotonin₂ receptor binding properties and their regulation by endogenous serotonin. *Life Sci.*, 52(3): 313–321.
- Andrews, Z.B.; Kokay, I.C.; Grattan, D.R. (2001). Dissociation of prolactin secretion from tuberoinfundibular dopamine activity in late pregnant rats. *Endocrinology*, 142(6): 2719–2724.
- Anotayanonth, S.; Subhedar, N.V.; Garner, P.; Neilson, J.P.; Harigopal, S. (2004). Betamimetics for inhibiting preterm labour. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 4:CD004352.
- Anthony, R.V.; Pratt, S.L.; Liang, R.; Holland, M.D. (1995). Placental-fetal hormonal interactions: impact on fetal growth. *J. Anim. Sci.*, 73(6): 1861–1871.
- Arai, F.; Kishimoto, Y.; Tada, K.; Kondo, Y.; Kudo, T. (2000). The presence and role of the dopamine DA-2 receptor in the human decidua. *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, 26(6): 449–454.
- Arai, K.Y.; Tanaka, Y.; Taniyama, H.; Tsunoda, N.; Nambo, Y.; Nagamine, N.; Watanabe, G. Taya, K. (2006). Expression of inhibins, activins, insulin-like growth factor-I and steroidogenic enzymes in the equine placenta. *Dom. Anim. Endocrinol.*, 31(1): 19–34.
- Argo, C.M.; Cox, J.E.; Gray, J.L. (1991). Effect of oral melatonin treatment on the seasonal physiology of pony stallions. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 44: 115–125.
- Arguello, M.A.; Schulze, K.J.; Wu, L.S.; Dreyfuss, M.L.; Khatry, S.K.; Christian, P.; West, K.P. (2015). Circulating IGF-1 may mediate improvements in haemoglobin associated with vitamin A status during pregnancy in rural Nepalese women. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 24(1): 128–137.
- Arida, R.M.; Naffah-Mazzacoratti, M. da G.; Soares, J.; Cavalheiro, E.A. (1998). Monoamine responses to acute and chronic aerobic exercise in normotensive and hypertensive subjects. *São Paulo Med. J.*, 116(1): 1618–1624.
- Asfar, P.; Hauser, B.; Radermacher, P.; Matejovic, M. (2006). Catecholamines and vasopressin during critical illness. *Crit. Care Clin.*, 22: 131–149.

- Assenza, A.; Arcigli, A.; Piccione, G.; Velis, A.; Bergero, D.; Caola, G. (2002). Daily rhythms of blood serum concentrations of some neutral amino acids and serotonin in the horse: a preliminary study. En: Proceedings of the symposium "Biological rhythms in livestock" Messina, Italy, pp. 95-99.
- Atkinson, H.C.; Waddell, B.J. (1995). The hypothalamo-pituitary-adrenal axis in rat pregnancy and lactation: circadian variation and interrelationship of plasma adrenocorticotropin and corticosterone. *Endocrinology*, 136: 512–520.
- Atli, M.; Güzeloğlu, A.; Kurar, E.; Kayis, S.; Aslan, S.; Semacan, A.; Celik, S. (2012). Expression of Epidermal Growth Factor (EGF) and Heparin-Binding EGF (HB-EGF) mRNA in mare endometrium. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 18(3): 463–467.
- Atzeni, I.; Deiana, S.F.; Meloni, A.; Cabiddu, E.; Batzella, E.; Cornacchia, S.; Zedda, P.; Orrù, M.; Piras, B.; Angiolucci, M.; Guerriero, S.; Lello, S.; Soddu, S.; Parodo, G.; Faa, G.; Melis, G.B.; Paoletti, A.M. (2013). Placental growth factor and preterm delivery. *Multidiscipl. J. Wom. Health*, 2(2/3): 22-24.
- Audhya, T.; Adams, J.B.; Johansen, L. (2012). Correlation of serotonin levels in CSF, platelets, plasma, and urine. *Biochim. Biophys. Acta*, 1820(10): 1496–1501.
- Aurich, C.; Gerlach, T.; Aurich, J.E.; Parvizi, N. (1999). Seasonal variation and opioidergic regulation of growth hormone release in cyclic, ovariectomized, and pregnant pony mares. *Biol. Reprod.*, 61(6): 1575–1580.
- Autiero, M.; Lutun, A.; Tjwa, M.; Carmeliet, P. (2003). Placental growth factor and its receptor, vascular endothelial growth factor receptor-1: novel targets for stimulation of ischemic tissue revascularization and inhibition of angiogenic and inflammatory disorders. *J. Thromb. Haemost.*, 1(7): 1356–1370.
- Awabdy, D.; Bryan-Lluka, L.J.; Wanstall, J.C. (2003). 5-hydroxytryptamine and platelets: uptake and aggregation in hypoxic pulmonary hypertensive rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 459(1): 1–7.
- Axelrod, J.; Reisine, T.D. (1984). Stress hormones: their interaction and regulation. *Science*, 224(4648): 452–459.
- Ayala, I.; Martos, N. (2013). Changes in serum dehydroepiandrosterone, androstenedione, testosterone, and 17 β -oestradiol levels associated with disease and surgery in the horse. *Acta Vet. Brno.*, 82(1): 91–96.
- Ayala, I.; Martos, N.F.; Silvan, G.; Gutierrez-Panizo, C.; Clavel, J.G.; Illera, J.C. (2012). Cortisol, adrenocorticotropin hormone, serotonin, adrenaline and noradrenaline serum concentrations in relation to disease and stress in the horse. *Res. Vet. Sci.*, 93(1): 103-107.
- Bachelot, A.; Monget, P.; Imbert-Bolloré, P.; Coshigano, K.; Kopchick, J.J.; Kelly, P.A.; Binart, N. (2002). Growth hormone is required for ovarian follicular growth. *Endocrinology*, 143(10): 4104–4112.
- Badawy, A.A. (2014). The tryptophan utilization concept in pregnancy. *Obstet. Gynecol. Sci.*, 57(4): 249–459.
- Badawy, A.A. (2015). Tryptophan metabolism, disposition and utilization in pregnancy. *Biosci. Rep.*, 35(5): e00261.
- Badcock, N.R.; Spence, J.G.; Stern, L.M. (1987). Serotonin levels in adults, autistic and nonautistic children-with a comparison of different methodologies. *Ann. Clin. Biochem.*, 24(Pt 6): 625-634.
- Badino, P.; Odore, R.; Re, G. (2005). Are so many adrenergic receptor subtypes really present in domestic animal tissues? A pharmacological perspective. *Vet. J.*, 170(2): 163–174.
- Bagshaw, C.S.; Ralston, S.L.; Fisher, H. (1994). Behavioral and physiological effect of orally administered tryptophan on

- horses subjected to acute isolation stress. *Appl. Animal Behav. Sci.*, 40(1): 1–12.
- Bahlmann, F.; Al Naimi, A. (2016). Using the angiogenic factors sFlt-1 and PlGF with Doppler ultrasound of the uterine artery for confirming preeclampsia. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 294(6): 1133–1139.
- Bailey, S.R.; Elliott, J. (1998). Evidence for different 5-HT_{1B/1D} receptors mediating vasoconstriction of equine digital arteries and veins. *Eur. J. Pharmacol.*, 355(2–3): 175–187.
- Bailey, S.R.; Katz, L.M.; Berhane, Y.; Samuels, T.; De Brauvere, N.; Marr, C.M.; Elliot, J. (2003). Seasonal changes in plasma concentrations of cecum-derived amines in clinically normal ponies and ponies predisposed to laminitis. *Am. J. Vet. Res.*, 64: 1132–1138.
- Balasubramanian, S.; Paulose, C.S. (1998). Induction of DNA synthesis in primary cultures of rat hepatocytes by serotonin: possible involvement of serotonin S₂ receptor. *Hepatology*, 27(1): 62–66.
- Baldwin, D.M.; Haun, C.K.; Sawyer, C.H. (1974). Effects of intraventricular infusions of ACTH₁₋₂₄ and ACTH₄₋₁₀ on LH release, ovulation and behavior in the rabbit. *Brain Res.*, 80(2): 291–301.
- Balkovetz, D.F.; Tiruppathi, C.; Leibach, F.H.; Mahesh, V.B.; Ganapathy, V. (1989). Evidence for an imipramine-sensitive serotonin transporter in human placental brush-border membranes. *J. Biol. Chem.*, 264(4): 2195–2198.
- Bammann, B.L.; Coulam, C.B.; Jiang, N.S. (1980). Total and free testosterone during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 137(3): 293–298.
- Baragli, P.; Ducci, M.; Gatta, D.; Gazzano, A.; Sighieri, C. (2006). Influence of training on plasma adrenaline and noradrenaline kinetics in untrained standardbreds. *Equine Vet. J. Suppl.*, 36: 258–261.
- Baragli, P.; Pacchini, S.; Gatta, D.; Ducci, M.; Sighieri, C. (2010). Brief note about plasma catecholamines kinetics and submaximal exercise in untrained standardbreds. *Ann. Ist. Super. Sanità*, 46(1): 96–100.
- Baragli, P.; Sgorbini, M.; Casini, L.; Ducci, M.; Sighieri, C. (2011). Early Evidence of the Anticipatory Response of Plasma Catecholamine in Equine Exercise. *J. Equine Vet. Sci.*, 31(2): 85–88.
- Barker, P.M.; Olver, R.E. (2002). Invited review: Clearance of lung liquid during the perinatal period. *J. Appl. Physiol.*, 93(4): 1542–1548.
- Barnea, E.R.; Perlman, R.; Bick, T.; Hochberg, Z. (1989). Effects of human growth hormone upon term placental hormone secretion in vitro. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 27(3): 133–136.
- Barsnick, R.J.; Hurcombe, S.D.; Dembek, K.; Frazer, M.L.; Slovis, N.M.; Saville, W.J.A.; Toribio, R.E. (2014). Somatotrophic axis resistance and ghrelin in critically ill foals. *Equine Vet. J.*, 46(1): 45–49.
- Barta, E.; Drugan, A. (2010). Glucose transport from mother to fetus—a theoretical study. *J. Theor. Biol.*, 263(3): 295–302.
- Bartke, A. (2003). Can growth hormone accelerate aging? Evidence from GH-transgenic mice. *Neuroendocrinology*, 78(4): 210–216.
- Bartke, A.; Westbrook, R.; Sun, L.; Ratajczak, M. (2013). Links between growth hormone and aging. *Endokrynol. Pol.*, 64(1): 46–52.
- Bashir, A.; Rasedee, A. (2009). Plasma catecholamines, sweat electrolytes and physiological responses of exercised normal, partial anhidrotic and anhidrotic horses. *Am. J. Anim. Vet. Sci.*, 4(1): 26–31.
- Bassett, J.M.; Hanson, C. (1998). Catecholamines inhibit growth in fetal sheep in the absence of hypoxemia. *Am. J. Physiol.*, 274(6 Pt 2): 1536–1545.

- Basu, B.; Desai, R.; Balaji, J.; Chaerkady, R.; Sriram, V.; Maiti, S.; Panicker, M.M. (2008) Serotonin in pre-implantation mouse embryos is localized to the mitochondria and can modulate mitochondrial potential. *Reproduction*, 135: 657–669.
- Basu, S.; Nagy, J.A.; Pal, S.; Vasile, E.; Eckelhoefer, I. A.; Bliss, V.S.; Manseau, E.J.; Dasgupta, P.S.; Dvorak, H.F.; Mukhopadhyay, D. (2001). The neurotransmitter dopamine inhibits angiogenesis induced by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Nat. Med.*, 7(5): 569–574.
- Baucus, K.L.; Squires, E.L.; Ralston, S.L.; Mckinnon, A.O.; Nett, T.M. (1990). Effect of transportation on the estrous cycle and concentrations of hormones in mares. *J. Anim. Sci.*, 68(2): 419–426.
- Beadle, R.E.; Norwood, G.L.; Brencick, V.A. (1982). Summertime plasma catecholamine concentrations in healthy and anhidrotic horse in Louisiana. *Am. J. Vet. Res.*, 43(8): 1446-1448.
- Beardsall, K.; Dunger, D. (2007). The physiology and clinical management of glucose metabolism in the newborn. *Endocr. Dev.*, 12: 124–137.
- Beaulieu, J.; Gainetdinov, R.R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol. Rev.*, 63: 182–217.
- Beckelmann, J.; Budik, S.; Helmreich, M.; Palm, F.; Walter, I.; Aurich, C. (2013). Sex-dependent insulin like growth factor-1 expression in preattachment equine embryos. *Theriogenology*, 79: 193-199.
- Beech, J.; Boston, R.C.; McFarlane, D.; Lindborg, S. (2009). Evaluation of plasma ACTH, alpha-melanocyte-stimulating hormone, and insulin concentrations during various photoperiods in clinically normal horses and ponies and those with pituitary pars intermedia dysfunction. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 235(6): 715–722.
- Beigi, R.H.; Yudin, M.H.; Cosentino, L.; Meyn, L.A.; Hillier, S.L. (2007). Cytokines, pregnancy, and bacterial vaginosis: comparison of levels of cervical cytokines in pregnant and nonpregnant women with bacterial vaginosis. *J. Infect. Dis.*, 196(9): 1355–1360.
- Beitins, I.Z.; Bayard, F.; Ances, I.G.; Kowarski, A.; Migeon, C.J. (1973). The metabolic clearance rate, blood production, interconversion and transplacental passage of cortisol and cortisone in pregnancy near term. *Pediatr. Res.* 7(5): 509-519.
- Belin, F.; Goudet, G.; Duchamp, G.; Gérard, N. (2000). Intrafollicular concentrations of steroids and steroidogenic enzymes in relation to follicular development in the mare. *Biol. Reprod.*, 62(5): 1335–1343.
- Bell, M.E.; Wood, C.E.; Keller-Wood, M. (1991). Influence of reproductive state on pituitary-adrenal activity in the ewe. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 8(2): 245-254.
- Bellik, L.; Vinci, M.C.; Filippi, S.; Ledda, F.; Parenti, A. (2005). Intracellular pathways triggered by the selective FLT-1- agonist placental growth factor in vascular smooth muscle cells exposed to hypoxia. *Br. J. Pharmacol.*, 146(4):568-575.
- Bellinger, D.L.; Millar, B.A.; Perez, S.; Carter, J.; Wood, C.; ThyagaRajan, S.; Molinaro, C.; Lubahn, C.; Lorton, D. (2008b). Sympathetic modulation of immunity: relevance to disease. *Cell. Immunol.*, 252(1–2): 27–56.
- Bellinger, D.L.; Silva, D.; Millar, A.B.; Molinaro, C.; Ghamsary, M.; Carter, J.; Perez, S.; Lorton, D.; Lubahn, C.; Araujoa, G.; Thyagarajan, S. (2008a). Sympathetic nervous system and lymphocyte proliferation in the Fischer 344 rat spleen: a longitudinal study. *Neuroimmunomodulation*, 15(4–6): 260–271.
- Ben-Jonathan, N.; Munsick, R.A. (1980). Dopamine and prolactin in human

- pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51(5): 1019–1025.
- Ben-Jonathan, N.; Oliver, C.; Weiner, H.J.; Mical, R.S.; Porter, J.C. (1977). Dopamine in hypophysial portal plasma of the rat during the estrous cycle and throughout pregnancy. *Endocrinology*, 100(2): 452–458.
- Bennett-Wimbush, K.; Loch, W.E.; Plata-Madrid, H.; Evans, T. (1998). The effects of perphenazine and bromocriptine on follicular dynamics and endocrine profiles in anestrus pony mares. *Theriogenology*, 49(4): 717-733.
- Berger, M.; Gray, J.A.; Roth, B.L. (2009). The expanded biology of serotonin. *Ann. Rev. Med.*, 60: 355–366.
- Berger, N.G.; Repke, J.T.; Woodruff, J.D. (1984). Markedly elevated serum testosterone in pregnancy without fetal virilization. *Obstet. Gynecol.*, 63(2): 260–262.
- Bergero, D.; Assenza, A.; Schiavone, A.; Piccione, G.; Perona, G.; Caola, G. (2005). Amino acid concentrations in blood serum of horses performing long lasting low-intensity exercise. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*, 89(3-6): 146-150.
- 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*. Samper, J.C.; Pycocck, J.F.; McKinnon, A.O. (eds.). St. Louis, MO, USA: Saunders Elsevier, pp. 1-13.
- Berndtson, W.E.; Jones, L.S. (1989). Relationship of intratesticular testosterone content of stallions to age, spermatogenesis, Sertoli cell distribution and germ cell-Sertoli cell ratios. *J. Reprod. Fertil.*, 85(2): 511–518.
- Berndtson, W.E.; Squires, E.L.; Thompson, D.L. (1983). Spermatogenesis, testicular composition and the concentration of testosterone in the equine testis as influenced by season. *Theriogenology*, 20(4): 449–457.
- Berry, S.A.; Srivastava, C.H.; Rubin, L.R.; Phipps, W.R.; Pescovitz, O.H. (1992). Growth hormone-releasing hormone-like messenger ribonucleic acid and immunoreactive peptide are present in human testis and placenta. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 75(1): 281–284.
- Besognet, B.; Hansen, B.S.; Daels, P.F. (1996). Dopaminergic regulation of gonadotrophin secretion in seasonally anoestrous mares. *J. Reprod. Fert.*, 108: 55–61.
- Bicknell, A.B. (2008). The tissue-specific processing of pro-opiomelanocortin. *J. Neuroendocrinol.*, 20(6): 692-699.
- Bilby, T.R.; Guzeloglu, A.; Kamimura, S.; Pancarci, S.M.; Michel, F.; Head, H.H.; Thatcher, W.W. (2004). Pregnancy and bovine somatotropin in nonlactating dairy cows: I. Ovarian, conceptus, and insulin-like growth factor system responses. *J. Dairy Sci.*, 87(10): 3256-3267.
- Bilby, T.R.; Sozzi, A.; Lopez, M.M.; Silvestre, F.T.; Ealy, A.D.; Staples, C.R.; Thatcher, W.W. (2006). Pregnancy, bovine somatotropin, and dietary n-3 fatty acids in lactating dairy cows: I. Ovarian, conceptus, and growth hormone-insulin-like growth factor system responses. *J. Dairy Sci.*, 89(9): 3360–3374.
- Binder, N.K.; Evans, J.; Salamonsen, L.A.; Gardner, D.K.; Kaitu'u-Lino, T.J.; Hannan, N.J. (2016). Placental Growth Factor is secreted by the human endometrium and has potential important functions during embryo development and implantation. *Plos One*, 11(10): e0163096.
- Birrell, S.N.; Butler, L.M.; Harris, J.M.; Buchanan, G.; Tilley, W.D. (2007). Disruption of androgen receptor signaling

- by synthetic progestins may increase risk of developing breast cancer. *FASEB J.*, 21(10): 2285–2293.
- Boden, G. (1996). Fuel metabolism in pregnancy and in gestational diabetes mellitus. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.*, 23(1): 1–10.
- Boehme, S.A.; Lio, F.M.; Sikora, L.; Pandit, T.S.; Lavrador, K.; Rao, S.P.; Sriramarao, P. (2004). Cutting edge: Serotonin is a chemotactic factor for eosinophils and functions additively with eotaxin. *J Immunol.* 173(6): 3599–3603.
- Boillot A.; Massol, J.; Maupoil, V.; Grelier, R.; Bernard, B.; Capellier, G.; Berthelot, A.; Barale, F. (1997). Myocardial and vascular adrenergic alterations in a rat model of endotoxic shock: reversal by an anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody. *Crit. Care Med.*, 25: 504-511.
- Bombardi, C.; Grandis, A.; Gardini, A.; Sorteni, C.; Clavenzani, P.; Chiocchetti, R. (2013). Expression of β 2 adrenoceptors within enteric neurons of the horse ileum. *Res. Vet. Sci.*, 95(3): 837–845.
- Bonnin, A.; Goeden, N.; Chen, K.; Wilson, M.L.; King, J.; Shih, J.C.; Blakely, R.D.; Deneris, E.S.; Levitt, P. (2011). A transient placental source of serotonin for the fetal forebrain. *Nature*, 472(7343): 347–350.
- Bonnin, A.; Levitt, P. (2011). Fetal, maternal, and placental sources of serotonin and new implications for developmental programming of the brain. *Neuroscience*, 197: 1–7.
- Botero-Ruiz, W.; Biggers, W.J.; Sanyal, M.K. (1997). Augmentation of DNA synthesis in placental and fetal tissues in utero by maternal growth hormone treatment. *Early Pregnancy*, 3(4): 272–280.
- Bottomley, M.J.; Webb, N.J.A.; Watson, C.J.; Holt, L.; Bukhari, M.; Denton, J.; Freemont, A.J.; Brenchley, P.E.C. (2000). Placenta growth factor (PlGF) induces vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion from mononuclear cells and is co-expressed with VEGF in synovial fluid. *Clin. Exp. Immunol.*, 119(1): 182–188.
- Boureau, Y.L.; Dayan, P. (2011). Opponency revisited: competition and cooperation between dopamine and serotonin. *Neuropsychopharmacology*, 36: 74-79.
- Bourgeois, M.A.; Denslow, N.D.; Seino, K.S.; Barber, D.S.; Long, M.T. (2011). Gene expression analysis in the thalamus and cerebrum of horses experimentally infected with West Nile virus. *Plos One*, 6(10): e24371.
- Bovell, D.L.; Riggs, C.M.; Sidlow, G.; Troester, S.; MacLaren, W.; Yip, W.; Ko, W.H. (2013). Evidence of purinergic neurotransmission in isolated, intact horse sweat glands. *Vet. Dermatol.*, 24(4): 398–403.
- Boyd, M.A.; Pozor, C.S.; Bailey, J.V. (2006). Effect of seasonality on testicular blood flow in mature stallions. *Anim. Reprod. Sci.*, 94: 144- 145.
- Brazeau, P.; Vale, W.; Burgus, R.; Ling, N.; Butcher, M.; Rivier, J.; Guillemin, R. (1973). Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science*, 179(4068): 77-79.
- Breier, B.H. (1999). Regulation of protein and energy metabolism by the somatotrophic axis. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 17(2–3): 209–218.
- Brelje, T.C.; Parsons, J.A.; Sorenson, R.L. (1994). Regulation of islet beta-cell proliferation by prolactin in rat islets. *Diabetes*, 43(2): 263–273.
- Brendemuehl, J.P.; Cross, D.L. (2000). Influence of the dopamine antagonist domperidone on the vernal transition in seasonally anoestrous mares. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, (56): 185–193.
- Bridges, R.S. (1996). Biochemical basis of parental behavior in the rat. En: *Parental care: evolution, mechanisms and adaptive significance*. Rosenblatt, J.S.; Snowdon, C.T.

- (eds.), Academic Press, New York, pp. 215–242.
- Brogan, P.T.; Henning, H.; Stout, T.A. E.; de Ruijter-Villani, M. (2016). Relationship between colour flow Doppler sonographic assessment of corpus luteum activity and progesterone concentrations in mares after embryo transfer. *Anim. Reprod. Sci.*, 166: 22–27.
- Brokaw, J.; Katsaros, D.; Wiley, A.; Lu, L.; Su, D.; Sochirca, O.; Rigault de la Longrais, I.A.; Mayne, S.; Risch, H.; Yu, H. (2007). IGF-I in epithelial ovarian cancer and its role in disease progression. *Growth Factors*, 25(5): 346–354.
- Brosnahan, M.M.; Paradis, M.R. (2003). Demographic and clinical characteristics of geriatric horses: 467 cases (1989-1999). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 223(1): 93–98.
- Bruera, D.; Chervin, A.; Surraco, M.E.; Vitale, M. (2007). Alteraciones neuroendocrinas y embarazo. *Rev. Argent. Endocrinol. Metab.*, 44(3): 174-183.
- Brunton, P.J. (2015). Neuroactive steroids and stress axis regulation: Pregnancy and beyond. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 160: 160-168.
- Brunton, P.J.; McKay, A.J.; Ochedalski, T.; Piastowska, A.; Rebas, E.; Lachowicz, A.; Russell, J.A. (2009). Central opioid inhibition of neuroendocrine stress responses in pregnancy in the rat is induced by the neurosteroid Allopregnanolone. *J. Neurosci.*, 29(20): 6449–6460.
- Bruschetta, G.; Di Pietro, P.; Fazio, E.; Ferlazzo, A.M. (2014). Plasma serotonin, tryptophan, hematological, and functional responses to horse trekking. *J. Vet. Behav. Clin. Appl. Res.*, 9(5): 248–253.
- Bruschetta, G.; Di Pietro, P.; Sanzarello, L.; Giacoppo, E.; Ferlazzo, A.M. (2010). Plasma serotonin levels in Italian Fresian dairy cows. *Vet. Res. Commun.*, 34(Suppl.1): 17–20.
- Bruschetta, G.; Pietro, P. Di; Miano, M.; Cravana, C.; Ferlazzo, A.M. (2013). Effect of Altitude on Plasma Serotonin Levels in Horses. En: *Trends in Veterinary Science*. Boiti, C.; Ferlazzo, A.; Gaiti, A.; Pugliese, A. (eds.). Springer Berlin Heidelberg, pp. 9–13.
- Buchanan, T.A.; Xiang, A.H. (2005). Gestational diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.*, 115(3): 485–491.
- Buhimschi, I.A.; Buhimschi, C.S.; Pupkin, M.; Weiner, C.P. (2003). Beneficial impact of term labor: nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 189(1): 181–188.
- Burger, H.G. (2002). Androgen production in women. *Fertil. Steril.*, 77(Suppl.4): 3–5.
- Burton, G.J.; Jauniaux, E. (2004). Placental oxidative stress: from miscarriage to preeclampsia. *J. Soc. Gynecol. Investig.*, 11(6): 342-352.
- Butler, S.T.; Marr, A.L.; Pelton, S.H.; Radcliff, R.P.; Lucy, M.C.; Butler, W.R. (2003). Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. *J. Endocrinol.*, 176(2): 205–217.
- Cahill, C.M.; Van der Kolk, H.; Goode, J.A.; Hayden, T.J. (1994). Development of homologous radioimmunoassays for equine growth hormone and equine prolactin and their application to the detection of circulating levels of hormone in horse plasma. *Reprod. Nutr. Dev.*, 34(4): 309–328.
- Canalis, E. (1997). Insulin-like growth factors and osteoporosis. *Bone*, 21(3): 215-216.
- Canisso, I.F.; Ball, B.A.; Esteller-Vico, A.; Squires, E.L.; Troedsson, M.H. (2014). Dehydroepiandrosterone sulfate and testosterone concentrations in mares carrying normal pregnancies. En: *Proceedings of the Society for*

- Theriogenology Annual Conference. Portland, USA.
- Canisso, I.F.; Ball, B.A.; Esteller-Vico, A.; Williams, N.M.; Squires, E.L.; Troedsson, M.H. (2016). Changes in maternal androgens and oestrogens in mares with experimentally induced ascending placentitis. *Equine Vet. J.* (In press).
- Carey, R.M. (2001). Renal dopamine system: paracrine regulator of sodium homeostasis and blood pressure. *Hypertension*, 38(3): 297–302.
- Carlsen, S.M.; Jacobsen, G.; Bjerve, K.S. (2003). Androgen levels in pregnant women decrease with increasing maternal age. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 63(1):23–26.
- Carlsen, S.M.; Jacobsen, G.; Romundstad, P. (2006). Maternal testosterone levels during pregnancy are associated with offspring size at birth. *Eur. J. Endocrinol.* 155(2): 365–370.
- Carlsson, B.; Hillensjö, T.; Nilsson, A.; Törnell, J.; Billig, H. (1993). Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) in the rat fallopian tube: possible autocrine and paracrine action of fallopian tube-derived IGF-I on the fallopian tube and on the preimplantation embryo. *Endocrinology*, 133(5): 2031–2039.
- Carlsson, L.; Edén, S.; Jansson, J.O. (1990). The plasma pattern of growth hormone in conscious rats during late pregnancy. *J. Endocrinol.*, 124(2): 191–198.
- Carmeliet, P.; Moons, L.; Luttmun, A.; Vincenti, V.; Compernelle, V.; De Mol, M.; Wu, Y.; Bono, F.; Devy, L.; Beck, H.; Scholz, D.; Acker, T.; DiPalma, T.; Dewerchin, M.; Noel, A.; Stalmans, I.; Barra, A.; Blacher, S.; VandenDriessche, T.; Ponten, A.; Eriksson, U.; Plate, K.H.; Foidart, J.M.; Schaper, W.; Charnock-Jones, D.S.; Hicklin, D.J.; Herbert, J.M.; Collen, D.; Persico, M. G. (2001). Synergism between vascular endothelial growth factor and placental growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. *Nat. Med.*, 7(5): 575–583.
- Caron, J.P.; Gandy, J.C.; Schmidt, M.; Hauptman, J.G.; Sordillo, L.M. (2013). Influence of corticosteroids on interleukin-1 β -stimulated equine chondrocyte gene expression. *Vet. Surg.*, 42(3): 231–237.
- Carr, B.R.; Parker, C.R.; Madden, J.D.; MacDonald, P.C.; Porter, J.C. (1981). Maternal plasma adrenocorticotrophin and cortisol relationships throughout human pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynaecol.*, 139(4): 416–422.
- Carrasco, G.; Cruz, M.A.; Gallardo, V.; Miguel, P.; Lagos, M.; González, C. (1998). Plasma and platelet concentration and platelet uptake of serotonin in normal and pre-eclamptic pregnancies. *Life Sci.*, 62(15): 1323–1332.
- Carrington, E.F.; Desautels, M.; Naylor, J.M. (2003). Beta-Adrenergic stimulated lipolysis in pony adipocytes is exclusively via a beta2-subtype and is not affected by lactation. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 136(2): 311–320.
- Carter, A.M. (2012). Evolution of placental function in mammals: the molecular basis of gas and nutrient transfer, hormone secretion, and immune responses. *Physiol. Rev.*, 92(4): 1543–1576.
- Cartmill, J.A. (2004). Leptin in horses: influences of body condition, gender, insulin insensitivity, feeding, and dexamethasone. Dissertation. Interdepartmental Program in Animal & Dairy Sciences. Faculty of the Louisiana State University.
- Case, S.C. (2010). Dopaminergic input to the equine pituitary: seasonal and estradiol effects. The Interdepartmental Program in the School of Animal Sciences. Thesis University of Louisiana at Lafayette.
- Castro, J.R.; Adair, H.S.; Radecki, S.V.; Kiefer, V.R.; Elliot, S.B.; Longhofer, S.L. (2010). Effects of domperidone on digital laminar microvascular blood flow in

- clinically normal adult horses. *Am. J. Vet. Res.*, 71(3): 281–287.
- Castrogiovanni, P.; Musumeci, G.; Trovato, F.M.; Avola, R.; Magro, G.; Imbesi, R. (2014). Effects of high-tryptophan diet on pre- and postnatal development in rats: a morphological study. *Eur. J. Nutr.*, 53(1): 297–308.
- Cataldo, L.R.; Cortés, V.A.; Galgani, J.E.; Olmos, P.R.; Santos, J.L. (2014). Role of peripheral serotonin in the insulin secretion and glucose homeostasis. *Nutr. Hosp.*, 30(3): 498–508.
- Catania, A.; Lonati, C.; Sordi, A.; Carlin, A.; Leonardi, P.; Gatti, S. (2010). The melanocortin system in control of inflammation. *Sci. World J.*, 10: 1840–1853.
- Caufriez, A.; Frankenne, F.; Hennen, G.; Copinschi, G. (1993). Regulation of maternal IGF-I by placental GH in normal and abnormal human pregnancies. *Am. J. Physiol.*, 265(4 Pt 1): E572-E577.
- Caufriez, A.; Leproult, R.; L’Hermite-Balériaux, M.; Moreno-Reyes, R.; Copinschi, G. (2009). A potential role of endogenous progesterone in modulation of GH, prolactin and thyrotrophin secretion during normal menstrual cycle. *Clin. Endocrinol.*, 71(4): 535–542.
- Cayado, P.; Muñoz-Escassi, B.; Domínguez, C.; Manley, W.; Olabarri, B.; Sánchez de la Muela, M.; Castejon, F.; Marañón, G.; Vara, E. (2006). Hormone response to training and competition in athletic horses. *Equine Vet. J. Suppl.*, 38(36): 274–278.
- Cebulj-Kadunc, N.; Kosec, M.; Cestnik, V. (2003). The variations of white blood cell count in Lipizzan horses. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 50(5): 251-253.
- Cengiz, H.; Dagdeviren, H.; Caypinar, S.S.; Kanawati, A.; Yildiz, S.; Ekin, M. (2015). Plasma serotonin levels are elevated in pregnant women with hyperemesis gravidarum. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 291(6): 1271–1276.
- Cerdeira, A.S.; Karumanchi, S.A. (2012). Angiogenic factors in preeclampsia and related disorders. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 2(11): 1-17.
- Challis, J.R.; Bassett, N.; Berdusco, E.T.; Han, V.K.; Lu, F.; Riley, S.C.; Yang, K. (1993). Foetal endocrine maturation. *Equine Vet. J. Suppl.*, (14): 35–40.
- Champion, Z.J.; Breier, B.H.; Ewen, W.E.; Tobin, T.T.; Casey, P.J. (2002). Blood plasma concentrations of insulin-like growth factor-I (IGF-I) in resting Standardbred horses. *Vet. J.*, 163(1): 45–50.
- Chan, E.C.; Smith, R.; Lewin, T.; Brinsmead, M.W.; Zhang, H.P.; Cubis, J.; Thornton, K.; Hurt, D. (1993). Plasma corticotropin-releasing hormone, beta-endorphin and cortisol inter-relationship during human pregnancy. *Acta Endocrinol.*, 128(4): 339-344.
- Chandran, S.; Guo, T.; Tolliver, T.; Chen, W.; Murphy, D.L.; McPherron, A.C. (2012). Effects of serotonin on skeletal muscle growth. *BMC Proc.*, 6 (Suppl 3): O3.
- Chaouloff, F. (1989). Physical exercise and brain monoamines: a review. *Acta Physiol. Scand.*, 137(1): 1–13.
- Chappell, L.C.; Duckworth, S.; Seed, P.T.; Griffin, M.; Myers, J.; Mackillop, L.; Simpson, N.; Waugh, J.; Anumba, D.; Kenny, L.C.; Redman, C.W.; Shennan, A.H. (2013). Diagnostic accuracy of placental growth factor in women with suspected preeclampsia: a prospective multicenter study. *Circulation*, 128(19): 2121–2131.
- Chavatte, P.; Holtan, D.; Ousey, J.C.; Rosedale P.D. (1997). Biosynthesis and possible biological roles of progestagens during equine pregnancy and in the newborn foal. *Equine Vet. J.*, 29(24): 89-95.
- Chellakooty, M.; Skibsted, L.; Skouby, S.O.; Andersson, A.M.; Petersen, J.H.; Main, K.M.; Skakkebaek, N.E.; Juul, A. (2002). Longitudinal study of serum placental GH in 455 normal pregnancies: correlation to

- gestational age, fetal gender, and weight. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 87(6): 2734–2739.
- Chellakooty, M.; Vangsgaard, K.; Larsen, T.; Scheike, T.; Falck-Larsen, J.; Legarth, J.; Andersson, A.M.; Main, K.M.; Skakkebaek, N.E.; Juul, A. (2004). A longitudinal study of intrauterine growth and the placental growth hormone (GH) -insulin-like growth factor I axis in maternal circulation: association between placental GH and fetal growth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 89(1): 384–391.
- Chen, X.; Scholl, T.O. (2008). Association of elevated free fatty acids during late pregnancy with preterm delivery. *Obstet. Gynecol.*, 112(2 Pt 1): 297–303.
- Childs, G.V.; Iruthayanathan, M.; Akhter, N.; Unabia, G.; Whitehead-Johnson, B. (2005). Bipotential effects of estrogen on growth hormone synthesis and storage in vitro. *Endocrinology*, 146(4): 1780–1788.
- Chinta, S.J.; Andersen, J.K. (2008). Redox imbalance in Parkinson's disease. *Biochim. Biophys. Acta*, 1780(11): 1362–1367.
- Choi, J.W.; Kim, S.K. (2004). Association of serum insulin-like growth factor-I and erythropoiesis in relation to body iron status. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 34(3): 324–328.
- Chopin, J.B.; Chopin, L.K.; Knott, L.M.; de Kretser, D.M.; Dowsett, K.F. (2002). Unusual ovarian activity in a mare preceding the development of an ovarian granulosa cell tumour. *Aust. Vet. J.*, 80(1–2): 32–36.
- Christensen, R.A.; Malinowski, K.; Scanes, C.G.; Hafs, H.D. (1997). Pulsatile release of somatotropin related to meal feeding and somatotropin response to secretagogues in horses. *J. Anim. Sci.*, 75(10): 2770–2777.
- Cikos, S.; Reháč, P.; Czikková, S.; Veselá, J.; Koppel, J. (2007). Expression of adrenergic receptors in mouse preimplantation embryos and ovulated oocytes. *Reproduction*, 133(6): 1139–1147.
- Clark, K.E.; Irion, G.L.; Mack, C.E. (1990). Differential responses of uterine and umbilical vasculatures to angiotensin II and norepinephrine. *Am. J. Physiol.*, 259(1 Pt 2): 197–203.
- Clemmons, D.R.; Underwood, L.E.; Ridgway, E.C.; Kliman, B.; Kjellberg, R.N.; Van Wyk, J.J. (1980). Estradiol treatment of acromegaly. Reduction of immunoreactive somatomedin-C and improvement in metabolic status. *Am. J. Med.*, 69(4): 571–575.
- Clemmons, M.D. (2012). Metabolic actions of IGF-1 in normal physiology and diabetes. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 4(2): 425–443.
- Colahan, P.T.; Savage, K.A.; Tebbett, I.R.; Rice, B.L.; Jackson, C.A.; Freshwater, L. (2006). The effect of adrenergic suppression induced by guanabenz administration on exercising Thoroughbred horses. *Equine Vet. J. Suppl.*, 36: 262–266.
- Colborn, D.R.; Thompson, D.L.Jr.; Roth, T.L.; Capehart, J.S.; White, K.L. (1991). Responses of cortisol and prolactin to sexual excitement and stress in stallions and geldings. *J. Anim. Sci.*, 69(6): 2556–2562.
- Coleman, M.E.; Demayo, F.; Yin, K.C.; Lee, H.M.; Geske, C.; Montgomery, C.; Schwartz, R.J. (1995). Myogenic vector expression of insulinlike growth factor I stimulates muscle cell differentiation and myofiber hypertrophy in transgenic mice. *J. Biol. Chem.*, 270: 12109–12116.
- Collier, R.J.; Hernandez, L.L.; Horseman, N.D. (2012). Serotonin as a homeostatic regulator of lactation. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 43(2): 161–170.
- Comline, R.S.; Silver, M. (1971). Catecholamine secretion by the adrenal medulla and the foetal and newborn foal. *J. Physiol.* 216: 659–682.
- Cone, R.D. (2006). Studies on the physiological functions of the melanocortin system. *Endocr. Rev.*, 27(7): 736–749.

- Conley, A.J. (2016). Review of the reproductive endocrinology of the pregnant and parturient mare. *Theriogenology*, 1-11 (In Press).
- Consitt, L.A.; Copeland, J.L.; Tremblay, M.S. (2002). Endogenous anabolic hormone responses to endurance versus resistance exercise and training in women. *Sports Med.*, 32(1): 1–22.
- Contesse, V.; Lefebvre, H.; Lenglet, S.; Kuhn, J.M.; Delarue, C.; Vaudry, H. (2000). Role of 5-HT in the regulation of the brain-pituitary-adrenal axis: effects of 5-HT on adrenocortical cells. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 78(12): 967–983.
- Cooper, E.S.; Greer, I.A.; Brooks, A.N. (1996). Placental proopiomelanocortin gene expression, adrenocorticotropin tissue concentrations, and immunostaining increase throughout gestation and are unaffected by prostaglandins, antiprogesterins, or labor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81(12): 4462-4469.
- Copas, V.E.; Durham, A.E. (2012). Circannual variation in plasma adrenocorticotropin hormone concentrations in the UK in normal horses and ponies, and those with pituitary pars intermedia dysfunction. *Equine Vet. J.*, 44(4): 440–443.
- Cordero, M.; Brorsen, B.W.; McFarlane, D. (2012). Circadian and circannual rhythms of cortisol, ACTH, and α -melanocyte-stimulating hormone in healthy horses. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 43: 317-324.
- Corr, P.J. (2006). *Understanding Biological Psychology*. Blackwell Publishing, Malden, MA.
- Costa, A.; De Filippis, V.; Voglino, M.; Giraudi, G.; Massobrio, M.; Benedetto, C.; Marozio, L.; Gallo, M.; Molina, G.; Fabris, C.; Bertino, E.; Licata, D. (1988). Adrenocorticotropin hormone and catecholamines in maternal, umbilical and neonatal plasma in relation to vaginal delivery. *J. Endocrinol. Invest.*, 11(10): 703–709.
- Coté, F.; Fligny, C.; Bayard, E.; Launay, J.; Gershon, M.D.; Mallet, J. (2007). Maternal serotonin is crucial for murine embryonic development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104(1): 329–334.
- Couëtil, L.; Paradis, M.R.; Knoll, J. (1996). Plasma adrenocorticotropin concentration in healthy horses and in horses with clinical signs of hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.*, 10(1): 1-6.
- Cousins, L.; Rigg, L.; Hollingsworth, D.; Meis, P.; Halberg, F.; Brink, G.; Yen, S.S.C. (1983). Qualitative and quantitative assessment of the circadian rhythm of cortisol in pregnancy. *Am. J. Obst. Gynaecol.*, 145: 411-416.
- Cowans, N.J.; Stamatopoulou, A.; Matwejew, E.; von Kaisenberg, C.S.; Spencer, K. (2010). First-trimester placental growth factor as a marker for hypertensive disorders and SGA. *Prenat. Diagn.*, 30(6): 565–570.
- Cox, J.E. (1975). Oestrone and equilin in the plasma of the pregnant mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 23: 463–468.
- Craft, R.; Mogil, J.S.; Aloisi, A.M. (2004). Sex differences in pain and analgesia: the role of gonadal hormones. *Eur. J. Pain*, 8: 397-411.
- Cramer, O.M.; Parker, C.R.; Porter, J.C. (1979). Stimulation of dopamine release into hypophysial portal blood by administration of progesterone. *Endocrinology*, 105(4): 929–933.
- Creese, I.; Sibley, D.R.; Leff, S. (1983). Classification of dopamine receptors. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.* 37: 255-266.
- Crespi, E.J.; Steckler, T.L.; Mohankumar, P.S.; Padmanabhan, V. (2006). Prenatal exposure to excess testosterone modifies the developmental trajectory of the insulin-like growth factor system in female sheep. *J. Physiol.*, 572(Pt 1): 119–130.

- Creutzberg, E.C.; Wouters, E.F.; Mostert, R.; Pluymers, R.J.; Schols, A.M. (2003). A role for anabolic steroids in the rehabilitation of patients with COPD? A double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Chest*, 124(5): 1733–1742.
- Cudd, T.A.; LeBlanc, M.; Silver, M.; Norman, W.; 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(2): 271–283.
- Cullen, L.K. (1996). Medetomidine sedation in dogs and cats: a review of its pharmacology, antagonism and dose. *Br. Vet. J.*, 152(5): 519–535.
- Cuniberti, B.; Badino, P.; Odore, R.; Girardi, C.; Re, G. (2012). Effects induced by exercise on lymphocyte β -adrenergic receptors and plasma catecholamine levels in performance horses. *Res. Vet. Sci.*, 92(1): 116–120.
- Cunningham, J.G. (2003). Sistema endocrino. En: *Fisiología Veterinaria*. 3ª ed. Editorial McGraw-Hill, Interamericana. México, pp. 458-464.
- Daels, P.F. (2006). Progesterone therapy and pregnancy loss. En: *Proceeding of 8th American Association of Equine Practitioners (AAEP). Annual Resort Symposium, Rome (Italy)*, pp. 19–21.
- Daels, P.F.; Albrecht, B.A.; Mohammed, H.O. (1995). In-vitro regulation of luteal function in mares. *Reprod. Domest. Anim.* 30: 211–217.
- Daels, P.F.; Albrecht, B.A.; Mohammed, H.O. (1998). Equine chorionic gonadotropin regulates luteal steroidogenesis in pregnant mares. *Biol. Reprod.*, 59(5): 1062–1068.
- Daels, P.F.; Chang, G.C.; Hansen, B.; Mohammed, H.O. (1996). Testosterone secretion during early pregnancy in mares. *Theriogenology*, 45(6): 1211–1219.
- Daels, P.F.; DeMoraes, J.J.; Stabenfeldt, G.H.; Hughes, J.P.; Lasley, B.L. (1991). The corpus luteum: source of oestrogen during early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 44: 501–508.
- Daels, P.F.; Fatone, S.; Hansen, B.S.; Concannon, P.W. (2000). Dopamine antagonist-induced reproductive function in anoestrous mares: gonadotrophin secretion and the effects of environmental cues. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, (56): 173–183.
- 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.
- Daels, P.F.; Shideler, S.; Lasley, B.L.; Hughes, J.P.; Stabenfeldt, G.H. (1990). Source of oestrogen in early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil.*, 90: 55-61.
- Daoud, N.M.; Ezzo, O.H. (2014). A study of some hormones concentrations in horses: Influences of reproductive status and breed differences. *Asian Pacific J. Reprod.*, 3(2): 128–133.
- Darne, F.J.; McGarrigle, H.H.; Lachelin, G.C. (1989). Diurnal variation of plasma and saliva oestrogen, progesterone, cortisol and plasma dehydroepiandrosterone sulphate in late pregnancy. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 32(2): 57–66.
- Dart, A.J.; Little, C.B.; Hughes, C.E.; Chu, O.; Dowling, B.A.; Hodgson, D.R.; Rose, R.J.; Johnson, K.A. (2003). *Equine Vet. J.*, 35(3): 302-307.
- Dauer, W.; Przedborski, S. (2003). Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*, 39(6): 889–909.
- Davey, D.A.; Macnab, M.F. (1981). Plasma adrenaline, noradrenaline and dopamine in pregnancy hypertension. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 88(6): 611–618.
- Davicco, M.J.; Faulconnier, Y.; Coxam, V.; Dubroeuq, H.; Martin-Rosset, W.; Barlet, J.P. (1994). Systemic bone growth factors

- in light breed mares and their foals. *Arch. Int. Biochim. Biophys.*, 102(2): 115–119.
- Davies Morel, M.C.G. (2003). *Equine reproductive physiology, breeding and stud management*. Davies Morel, M.C.G. (ed.). 2^a ed. Wallindorf, U. K. New York.
- Davis, B.P. (2016). Evaluating the effectiveness of varying doses of supplemental tryptophan as a calmativ in horses. Thesis. Department of Animal Sciences. Colorado State University, Fort Collins, Colorado.
- Davis, K.A.; Klohonatz, K.M.; Bouma, G.J.; Bruemmer, J.E. (2016). Androgen receptor in the term equine placenta. *J. Equine Vet. Sci.*, 0(0): 19–34. In press.
- Davis, S.R.; Burger, H.G. (2003). The role of androgen therapy. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 17(1): 165–175.
- Davison, S.L.; Bell, R. (2006). Androgen physiology. *Seminars in Reproductive Medicine*, 24(2): 71–77.
- Davison, S.L.; Bell, R.; Donath, S.; Montalto, J.G. Davis, S.R. (2005). Androgen levels in adult females: changes with age, menopause, and oophorectomy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 90(7): 3847–3853.
- De Backer, D.; Biston, P.; Devriendt, J.; Madl, C.; Chochrad, D.; Aldecoa, C.; Brasseur, A.; Defrance, P.; Cottignies, P.; Vincent, J.L. (2010). Comparison of dopamine and norepinephrine in the treatment of shock. *N. Engl. J. Med.*, 362(9): 779–789.
- De Ceuninck, F.; Dassencourt, L.; Anract, P. (2004). The inflammatory side of human chondrocytes unveiled by antibody microarrays. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 323(3): 960–969.
- De Falco, S. (2012). The discovery of placenta growth factor and its biological activity. *Exp. Mol. Med.*, 44(1): 1-9.
- De Falco, S.; Gigante, B.; Persico, M.G. (2002). Structure and function of placental growth factor. *Trends Cardiovasc. Med.*, 12(6): 241–246.
- De Graaf-Roelfsema, E.; Keizer, H.A.; Van Breda, E.; Wijnberg, I.D.; Van der Kolk, J.H. (2007). Hormonal responses to acute exercise, training and overtraining a review with emphasis on the horse. *Vet. Q.*, 29(3): 82–101.
- De Graaf-Roelfsema, E.; Veldhuis, P.P.; Keizer, H.A.; van Ginneken, M.M.; van Dam, K.G.; Johnson, M.L.; Barneveld, A.; Menheere, P.P.; van Breda, E.; Wijnberg, I.D.; van der Kolk, J.H. (2009). Overtrained horses alter their resting pulsatile growth hormone secretion. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 297(2): 403–411.
- De Graaf-Roelfsema, E.; Veldhuis, P.P.; van Dam, K.G.; Menheere, P.P.; Keizer, H.A.; Johnson, M.L.; van Breda, E.; Wijnberg, I.D.; van der Kolk, J.H. (2011). Assessment of endogenous growth hormone pulsatility in gelded yearling horses using deconvolution analysis. *Vet. Q.*, 31(2): 63–71.
- De Kock, S.S.; Rodgers, J.P.; Swanepoel, B.C.; Guthrie, A.J. (2001). Administration of bovine, porcine and equine growth hormone to the horse: effect on insulin-like growth factor-I and selected IGF binding proteins. *J. Endocrinol.*, 171: 163-171.
- De Palo, E.F.; Gatti, R.; Antonelli, G.; Spinella, P. (2006). Growth hormone isoforms, segments/fragments: does a link exist with multifunctionality? *Clin. Chim. Acta*, 364(1–2): 77–81.
- De Weerth, C.; Buitelaar, J.K. (2005). Physiological stress reactivity in human pregnancy--a review. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 29(2): 295–312.
- Dehennin, L.; Bonnaire, Y.; Plou, P. (2001). Human nutritional supplements in the horse. Dehydroepiandrosterone versus androstenedione: comparative effects on the androgen profile and consequences for doping analysis. *J. Anal. Toxicol.*, 25(8): 685–690.

- Deichsel, K.; Aurich, J.; Parvizi, N.; Bruckmaier, R.M.; Aurich, C. (2006). LH and IGF-1 release during oestrus and early luteal phase in lactating and non-lactating horse mares. *Anim. Reprod. Sci.*, 91(1–2): 97–106.
- Deichsel, K.; Aurich, J.; Parvizi, N.; Bruckmaier, R.M.; Aurich, C. (2006). LH and IGF-1 release during oestrus and early luteal phase in lactating and non-lactating horse mares. *Anim. Reprod. Sci.*, 91(1–2): 97–106.
- Deichsel, K.; Pasing, S.; Erber, R.; Ille, N.; Palme, R.; Aurich, J.; Aurich, C. (2015). Increased cortisol release and transport stress do not influence semen quality and testosterone release in pony stallions. *Theriogenology*, 84(1): 70–75.
- Delafontaine, P.; Song, Y.H.; Li, Y. (2004). Expression, regulation, and function of IGF-1, IGF-1R, and IGF-1 binding proteins in blood vessels. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 24(3): 435–444.
- Delesalle, C.; Deprez, P.; Schuurkes, J.A.J.; Lefebvre, R.A. (2006). Contractile effects of 5-hydroxytryptamine and 5-carboxamidotryptamine in the equine jejunum. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 147(1): 23–35.
- Delesalle, C.; van de Walle, G.R.; Nolten, C.; Ver Donck, L.; van Hemelrijck, A.; Drinkenburg, W.; Bosschere, H.; Claes, P.; Deprez, P.; Lefere, L.; Torfs, S.; Lefebvre, R. A. (2008). Determination of the source of increased serotonin (5-HT) concentrations in blood and peritoneal fluid of colic horses with compromised bowel. *Equine Vet. J.*, 40(4): 326–231.
- Delorey, D.S.; Clifford, P.S.; Mittelstadt, S.; Anton, M.M.; Kluess, H.A.; Tune, J.D.; Dincer, U.D.; Buckwalter, J.B. (2012). The effect of aging on adrenergic and nonadrenergic receptor expression and responsiveness in canine skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, 112(5): 841–848.
- Dempsey, M.A.; Flood, K.; Burke, N.; Murray, A.; Cotter, B.; Mullers, S.; Dicker, P.; Fletcher, P.; Geary, M.; Kenny, D.; Malone, F.D. (2015). Platelet function in patients with a history of unexplained recurrent miscarriage who subsequently miscarry again. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 188: 61–65.
- DePew, C.L.; Thompson, D.L.; Fernandez, J.M.; Sticker, L.S.; Burleigh, D.W. (1994). Changes in concentrations of hormones, metabolites, and amino acids in plasma of adult horses relative to overnight feed deprivation followed by a pellet-hay meal fed at noon. *J. Anim. Sci.*, 72(6): 1530–1539.
- Derar, R.; Haramaki, S.; Hoque, S.; Hashizume, T.; Osawa, T.; Taya, K.; Watanabe, G.; Miyake, Y.-I. (2005). Insulin-like growth factor-I as a follicular growth promoter during early pregnancy in Thoroughbred mares. *J. Vet. Med. Sci.*, 67(1): 19–23.
- Di Pietro, P.; Bruschetta, G.; Sanzarello, L.; Ferlazzo, A.M.; Medica, P. (2010). Horse platelet poor plasma serotonin levels after trekking. *Proc. It. Soc. Vet. Sci.*, 64:3–5.
- Diamini, B.J.; Li, Y.; Klindt, J.; Anderson, L.L. (1995). Acute shifts in relaxin, progesterone, prolactin and growth hormone secretion in Chinese Meishan gilts during late pregnancy and after hysterectomy. *J. Anim. Sci.*, 73(12): 3732–3742.
- Díez de Castro, E.; Lopez, I.; Cortes, B.; Pineda, C.; Garfia, B.; Aguilera-Tejero, E. (2014). Influence of feeding status, time of the day, and season on baseline adrenocorticotrophic hormone and the response to thyrotropin releasing hormone-stimulation test in healthy horses. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 48: 77–83.
- Díez de Castro, E.; Ortiz, I.; Cortés, B.; Delgado, L.; Garfia, B.; Aguilera Tejero, E. (2013). Valores de ACTH basal y respuesta al test de estimulación con TRH en caballos

- PRE. 14 congreso internacional de medicina y cirugía equina, Sevilla, España, pp. 307-311.
- DiPalma, T.; Tucci, M.; Russo, G.; Maglione, D.; Lago, C.T.; Romano, A.; Saccone, S.; Della Valle, G.; De Gregorio, L.; Dragani, T.A.; Viglietto, G.; Persico, M.G. (1996). The placenta growth factor gene of the mouse. *Mamm. Genome*, 7(1): 6–12.
- Dixit, V.D.; Parvizi, N. (2001). Pregnancy stimulates secretion of adrenocorticotropin and nitric oxide from peripheral bovine lymphocytes. *Biol. Reprod.*, 64(1): 242–248.
- Dlamini, B.J.; Li, Y.; Klindt, J.; Anderson, L.L. (1995). Acute shifts in relaxin, progesterone, prolactin, and growth hormone secretion in Chinese Meishan gilts during late pregnancy and after hysterectomy. *J. Anim. Sci.*, 73(12): 3732–3742.
- Docherty, J.R. (2002). Age-related changes in adrenergic neuroeffector transmission. *Auton. Neurosci.*, 96(1): 8–12.
- Doherty, A.S.; Temeles, G.L.; Schultz, R.M. (1994). Temporal pattern of IGF-I expression during mouse preimplantation embryogenesis. *Mol. Reprod. Dev.*, 37(1): 21–26.
- Doherty, L.F.; Kwon, H.E.; Taylor, H.S. (2011). Regulation of tryptophan 2,3-dioxygenase by HOXA10 enhances embryo viability through serotonin signaling. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 300(1): 86-93.
- 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.; Thompson, D.L. (2002). Administration of sulpiride to anovulatory mares in winter: effects on prolactin and gonadotropin concentrations, ovarian activity, ovulation and hair shedding. *Theriogenology*, 57(2): 963–976.
- Donaldson, L.L. (1988). Retrospective assessment of dobutamine therapy for hypotension in anesthetized horses. *Vet. Surg.*, 17(1): 53–57.
- Donaldson, M.D.; Vesey, C.J.; Bouloux, P.M.; Watson, J.D.; Besser, G.M.; Hinds, C.J. (1993). Plasma catecholamine levels in porcine *Escherichia coli* septicaemia and following treatment with buprenorphine or naloxone. *Circ. Shock*, 39(3): 169-177.
- Donaldson, M.T.; LaMonte, B.H.; Morresey, P.; Smith, G.; Beech, J. (2002). Treatment with pergolide or cyproheptadine of pituitary pars intermedia dysfunction (Equine Cushing's Disease). *J. Vet. Int. Med.*, 16(6):742-746.
- Donaldson, M.T.; McDonnell, S.M.; Schanbacher, B.J.; Lamb, S.V.; McFarlane, D.; Beech, J. (2005). Variation in plasma adrenocorticotropin hormone concentration and dexamethasone suppression test results with season, age, and sex in healthy ponies and horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 19: 217-222.
- Dosogne, H.; Massart-Leën, A.M.; Burvenich, C. (2000). Immunological aspects of pregnancy-associated glycoproteins. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 480: 295–305.
- Douglas, A.J.; Brunton, P.J.; Bosch, O.J.; Russell, J.A.; Neumann, I.D. (2003). Neuroendocrine responses to stress in mice: hyporesponsiveness in pregnancy and parturition. *Endocrinology*, 144(12): 5268–5276.
- Douglas, A.J.; Johnstone, H.A.; Wigger, A.; Landgraf, R.; Russell, J.A.; Neumann, I.D. (1998). The role of endogenous opioids in neurohypophysial and hypothalamo-pituitary-adrenal axis hormone secretory responses to stress in pregnant rats. *J. Endocrinol.*, 158(2): 285–293.
- Douglas, A.J.; Russell, J.A. (2001). Endogenous opioid regulation of oxytocin

- and ACTH secretion during pregnancy and parturition. *Prog. Brain Res.*, 133: 67-82.
- Doyle, S.E.; Mclvor, W.E.; Menaker, M. (2002). Circadian rhythmicity in dopamine content of mammalian retina: role of the photoreceptors. *J. Neurochem.*, 83(1): 211-219.
- Drakakis, P.; Loutradis, D.; Milingos, S.; Michalas, S.; Kallianidis, K.; Bletsas, R.; Aravantinos, D.; Kiessling, A.A. (1995). A preliminary study of the effect of growth hormone on mouse preimplantation embryo development in vitro. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 40(4): 222-226.
- Durham, A.E. (2016). Endocrine disease in aged horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 32(2): 301-315.
- Dybdal, N.O.; Hargreaves, K.M.; Madigan, J.E.; Gribble, D.H.; Kennedy, P.C.; Stabenfeldt, G.H. (1994). Diagnostic testing for pituitary pars intermedia dysfunction in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 204(4): 627-632.
- Eberhardt, N.L.; Jiang, S.W.; Shepard, A.R.; Arnold, A.M.; Trujillo, M.A. (1996). Hormonal and cell-specific regulation of the human growth hormone and chorionic somatomammotropin genes. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, 54: 127-163.
- Eigler, T.; Ben-Shlomo, A. (2014). Somatostatin system: molecular mechanisms regulating anterior pituitary hormones. *J. Mol. Endocrinol.*, 53(1): R1-19.
- Eisenberg, D.P.; Kohn, P.D.; Baller, E.B.; Bronstein, J.A.; Masdeu, J.C.; Berman, K.F. (2010). Seasonal effects on human striatal presynaptic dopamine synthesis. *J. Neurosci.*, 30(44): 14691-14694.
- Elias, L.L.K.; Clark, A.J.L. (2000). The expression of the ACTH receptor. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 33(10): 1245-1248.
- Elliott, J.; Bailey, S.R. (2006). Gastrointestinal derived factors are potential triggers for the development of acute equine laminitis. *J. Nutr.*, 136(7 Suppl): 2103S-2107S.
- Ellis, M.J.; Livesey, J.H.; Donald, R.A. (1994). Horse plasma corticotrophin-releasing hormone (CRH): characterisation and lack of a late gestational rise or a plasma CRH-binding protein. *J. Endocrinol.*, 143(3): 455-460.
- Elman, I.; Goldstein, D.S.; Adler, C.M.; Shoaf, S.E.; Breier, A. (2001). Inverse relationship between plasma epinephrine and testosterone levels during acute glucoprivation in healthy men. *Life Sci.*, 68(16): 1889-1898.
- Emmi, A.M.; Skurnick, J.; Goldsmith, L.T.; Gagliardi, C.L.; Schmidt, C.L.; Kleinberg, D.; Weiss, G. (1991). Ovarian control of pituitary hormone secretion in early human pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 72(6): 1359-1363.
- Engstrom, T.; Bratholm, P.; Christensen, N.J.; Vilhardt, H. (1999). Up-regulation of oxytocin receptors in non-pregnant rat myometrium by isoproterenol: effects of steroids. *J. Endocrinol.*, 161(3): 403-411.
- Erber, R.; Wulf, M.; Rose-Meierhöfer, 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.
- Erez, O.; Romero, R.; Espinoza J.; Fu, W.; Todem, D.; Kusanovic, J.P.; Gotsch, F.; Edwin, S.; Nien, J.K.; Chaiworapongsa, T.; Mittal, P.; Mazaki-Tovi, S.; Than, N.G.; Gomez, R.; Hassan, S.S. (2008). The change in concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in maternal plasma between the first and second trimesters in risk assessment for the subsequent development of preeclampsia and small-for-gestational age. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.*, 21(5): 279-287.
- Escalada, J.; Sánchez-Franco, F.; Velasco, B.; Cacicedo, L. (1997). Regulation of Growth Hormone (GH) gene expression

and secretion during pregnancy and lactation in the rat: role of Insulin-Like Growth Factor-I, somatostatin, and GH-Releasing Hormone. *Endocrinology*, 138(8): 3435–3443.

Espinoza, J.; Romero, R.; Nien, J.K.; Gomez, R.; Kusanovic, J.P.; Gonçalves, L.F.; Medina, L.; Edwin, S.; Hassan, S.; Carstens, M.; Gonzalez, R. (2007). Identification of patients at risk for early onset and/or severe preeclampsia with the use of uterine artery Doppler velocimetry and placental growth factor. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 196(4): 326.e1-13.

Estes, K.S.; Simpkins, J.W. (1984). Age-related alterations in dopamine and norepinephrine activity within microdissected brain regions of ovariectomized Long Evans rats. *Brain Res.*, 298(2): 209–218.

Evans, J.F.; Rodriguez, S.; Ragolia, L. (2013). ACTH promotes chondrogenic nodule formation and induces transient elevations in intracellular calcium in rat bone marrow cell cultures via MC2-R signaling. *Cell Tissue Res.*, 352(2): 413-425.

Evans, J.W. (1971). Effect of fasting, gestation, lactation and exercise on glucose turnover in Horses. *J. Anim. Sci.*, 33(5): 1001–1004.

Evans, J.W.; Winget, C.M.; Pollak, E.J. (1977). Rhythmic cortisol secretion in the equine: Analysis and physiological mechanisms. *J. Interdiscipl. Cycle Res.*, 8(2): 111–121.

Eynard, N.; Flachaire, E.; Lestra, C.; Broyer, M.; Zaidan, R.; Claustrat, B.; Quincy, C. (1993). Platelet serotonin content and free and total plasma tryptophan in healthy volunteers during 24 hours. *Clin. Chem.*, 39(11 Pt 1): 2337–2340.

Fahlbusch, F.B.; Ruebner, M.; Volkert, G.; Offergeld, R.; Hartner, A.; Menendez-Castro, C.; Strick, R.; Rauh, M.; Rascher, W.; Dötsch, J. (2012). Corticotropin-releasing hormone stimulates expression of leptin,

11beta-HSD2 and syncytin-1 in primary human trophoblasts. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 10: 80.

Farris, J.W.; Hinchcliff, K.W.; McKeever, K.H.; Lamb, D.R.; Thompson, D.L. (1998). Effect of tryptophan and of glucose on exercise capacity of horses. *J. Appl. Physiol.*, 85(3): 807-816.

Fazio, E.; Aronica, V.; Medica, P.; Grasso, L. (2001). Physiological levels of serum ACTH and cortisol in mares. Seasonal modifications and influence of pregnancy. *Atti. Soc. It. Sci. Vet.*, 55: 61-62.

Fazio, E.; Medica, P.; Aronica, V.; Grasso, L.; Ferlazzo, A. (2008). Circulating β -endorphin, adrenocorticotrophic hormone and cortisol levels of stallions before and after short road transport: stress effect of different distances. *Acta Vet. Scand.*, 50(1): 6.

Fazio, E.; Medica, P.; Cravana, C.; Ferlazzo, A.A. (2016). Pituitary-adrenocortical adjustments to transport stress in horses with previous different handling and transport conditions. *Vet. World*, 9(8): 856–861.

Fazio, E.; Medica, P.; Grasso, L.; Messineo, C.; Ferlazzo, A. (2009). Changes of circulating β -endorphin, adrenocorticotrophin and cortisol concentrations during growth and rearing in Thoroughbred foals. *Livestock Sci.*, 125(1): 31-36.

Ferlazzo, A.M.; Bruschetta, G.; Di Pietro, P.; Medica, P. (2012). The influence of age on plasma serotonin levels in Thoroughbred horses. *Livestock Sci.*, 147(1–3): 203–207.

Ferrara, N. (2001). Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 280(6): 1358-1366.

Ferrara, N. (2004). Vascular Endothelial Growth Factor: Basic Science and Clinical Progress. *Endocr. Rev.*, 25(4): 581-611.

Ferraz, L.E.S.; Vicente, W.R.R.; Ramos, P.R.R. (2001). Progesterone and estradiol

- 17- β concentration, and ultrasonic images of the embryonic vesicle during the early pregnancy in Thoroughbred mares. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 53(4): 1–7.
- Ferreira, L.B.; de Nicola, A.C.; Anselmo-Franci, J.A.; Dornelles, R.C. (2015). Activity of neurons in the preoptic area and their participation in reproductive senescence: Preliminary findings. *Exp. Gerontol.*, 72: 157–161.
- Fohlenhag, K.I.; Sandstrom, I.M.; Malmlof, K.; Skottner, A.I.; Nyberg, F.J. (1994). Human growth hormone does not cross the placenta of the pregnant rat. *Growth Regul.*, 4(4): 181–187.
- Field, T.; Diego, M.; Dieter, J.; Hernandez-Reif, M.; Schanberg, S.; Kuhn, C.; Yando, R.; Bendell, D. (2004). Prenatal depression effects on the fetus and the newborn. *Infant Behav. Dev.*, 27(2): 216–229.
- Field, T.; Diego, M.; Hernandez-Reif, M. (2006). Prenatal depression effects on the fetus and newborn: a review. *Infant Behav. Dev.*, 29(3): 445–455.
- Field, T.; Diego, M.; Hernandez-Reif, M.; Figueiredo, B.; Deeds, O.; Ascencio, A.; Schanberg, S.; Kuhn, C. (2008). Prenatal dopamine and neonatal behavior and biochemistry. *Infant Behav. Dev.*, 31(4): 590–593.
- Filipović, N.; Stojević, Z.; Plevnik, N.; Mašek, T.; Prvanović, N.; Tuček, Z. (2014). The influence of age on bone metabolism in mares during late pregnancy and lactation. *Res. Vet. Sci.*, 97(2): 194–198.
- Fink, C.; Tatar, M.; Failing, K.; Hospes, R.; Kressin, M.; Klisch, K. (2006). Serotonin-Containing cells in the gastrointestinal tract of newborn foals and adult horses. *Anat. Histol. Embryol.*, 35(1): 23–27.
- Fisher, C.; Jonckx, B.; Mazzone, M.; Zacchigna, S.; Loges, S.; Pattarini, L.; Chorianopoulos, E.; Liesenborghs, L.; Kock, M.; De Mol, L.; Autiero, M.; Wyns, S.; Plaisance, S.; Moons, L.; van Rooijen, N.; Giacca, M.; Stassen, J.M.; Dewerchin, M.; Collen, D.; Carmeliet, P. (2007). Anti-PlGF inhibits growth of VEGF(R)-inhibitorresistant tumors without affecting healthy vessels. *Cell*, 131(3): 463–475.
- Fitko, R. (1965). Fizjopatologia procesu owulacji. *Med. Wet.*, 21: 488-492.
- Flachaire, E.; Eynard, N.; Broyer, M.; Berthier, A.; Quincy, C.; de Villard, R. (1993). Relevance of platelet serotonin and plasma tryptophan concentration in normal pregnant women and newborns to early child psychiatry. *ECAP*, 2(4): 205–210.
- Flint, A.P.F.; Burton, R.D.; Gadsby, J.E.; Saunders, P.T.K.; Heap, R.B. (1979). Blastocyst oestrogen synthesis and the maternal recognition of pregnancy. En: *Maternal recognition of pregnancy*. Whelan, J. (ed.). Ciba Foundation Symposium, Excerpta Medica, Amsterdam, pp. 209–238.
- Flisinska-bojanowska, A.; Gill, J.; Komosa, M. (1991a). 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.*, 94 (2): 283-288.
- Flisinska-Bojanowska, A.; Komosa, M.; Gill, J. (1991b). Influence of pregnancy on diurnal and seasonal changes in cortisol, T3 and T4 levels in the mare blood serum. *Comp. Biochem. Physiol. A. Comp. Physiol.*, 98(1): 23-30.
- Flood, P.F.; Marrable, A.W. (1975). A histochemical study of steroid metabolism in the equine fetus and placenta. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 23: 569–573.
- Fogari, R.; Corradi, L. (1974). Variazioni circadiane della serotonina ematica nei

- soggetti normali. *Folia Endocrinol.* 27: 463-469.
- Fontana, L.; Partridge, L.; Longo, V.D. (2010). Extending Healthy Life Span--From Yeast to Humans. *Science*, 328(5976): 321–326.
- Forbes, K.; Westwood, M. (2008). The IGF axis and placental function: a mini- review. *Horm. Res.*, 69: 129–137.
- Forhead, A.J.; Broughton Pipkin, F.; Taylor, P.M.; Baker, K.; Balouzet, V.; Giussani, D.A.; Fowden, A.L. (2000). Developmental 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.
- Forsyth, I.A. (1986). Variation among species in the endocrine control of mammary growth and function: the roles of prolactin, growth hormone, and placental lactogen. *J. Dairy Sci.*, 69(3): 886–903.
- Fourrier, F.; Jallot, A.; Leclerc, L.; Jourdain, M.; Racadot, A.; Chagnon, J.L.; Rime, A.; Chopin, C. (1994). Sex steroid hormones in circulatory shock, sepsis syndrome, and septic shock. *Circ. Shock*, 43(4): 171–178.
- Fowden, A.L.; Comline, R.S.; Silver, M. (1984). Insulin secretion and carbohydrate metabolism during pregnancy in the mare. *Equine Vet. J.*, 16(4): 239-246.
- Fowden, A.L.; Forhead, A.J. (2004). Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction*, 127(5): 515-526.
- Fowden, A.L.; Forhead, A.J. (2009). Endocrine regulation of feto-placental growth. *Horm. Res.*, 72(5): 257–265.
- Fowden, A.L.; Forhead, A.J.; Ousey, J.C. (2008). The endocrinology of equine parturition. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 116: 393-403.
- 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.
- Fowden, A.L.; Giussani, D.A.; Forhead, A.J. (2005). Endocrine and metabolic programming during intrauterine development. *Early Hum. Dev.*, 81(9): 723–734.
- Fowden, A.L.; Mljovic, J.; Ousey, J.C.; Mcgladdery, A.; Silver, M. (1992). The development of gluconeogenic enzymes in the liver and kidney of fetal and newborn foals. *J. Dev. Physiol.* 18: 137- 142.
- Fowden, A.L.; Ward, J.W.; Wooding, F.P.; Forhead, A.J.; Constancia, M. (2006). Programming placental nutrient transport capacity. *J. Physiol.*, 572(1): 5–15.
- Frederico, L.M.; Gerard, M.P.; Pinto, C.R.; Gradil, C.M. (2007). Bilateral occurrence of granulosa-theca cell tumors in an Arabian mare. *Can. Vet. J.*, 48(5): 502–505.
- Freemark, M. (2010). Placental hormones and the control of the fetal growth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 95(5): 2054-2057.
- French, K.; Pollitt, C.C.; Pass, M.A. (2000). Pharmacokinetics and metabolic effects of triamcinolone acetonide and their possible relationships to glucocorticoid-induced laminitis in horses. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 23(5): 287–292.
- Froesch, E.R.; Hussain, M.A.; Schmid, C.; Zapf, J. (1996). Insulin-like Growth Factor I: Physiology, metabolic effects and clinical uses. *Diabetes Metab. Rev.*, 12(3): 195–215.
- Fu, Q.; McKnight, R.A.; Callaway, C.W.; Yu, X.; Lane, R.H.; Majnik, A.V. (2015). Intrauterine growth restriction disrupts developmental epigenetics around distal growth hormone response elements on the rat hepatic IGF-1 gene. *FASEB J.*, 29(4): 1176–1184.
- Fukushima, T.; Ichinose, M.; Shingai, R.; Sawada, M. (2001). Adrenocorticotrophic hormone activates an outward current in cultured mouse peritoneal macrophages. *J. Neuroimmunol.*, 113(2): 231–235.

- Funk, R.A.; Stewart, A.J.; Wooldridge, A.A.; Kwessi, E.; Kemppainen, R.J.; Behrend, E.N.; Zhong, Q.; Johnson, A.K. (2011). Seasonal changes in plasma adrenocorticotrophic hormone and α -melanocyte-stimulating hormone in response to thyrotropin-releasing hormone in normal, aged horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 25(3): 579–585.
- Gall, V.; Kosec, V.; Vranes, H.S.; Jukić, M.; Filipović-Djaković, I.; Vuković, A. (2011). Platelet serotonin concentration at term pregnancy and after birth: physiologic values for Croatian population. *Coll. Antropol.*, 35(3): 715–718.
- Garey, S.M.; Friend, T.H.; Sigler, D.H.; Berghman, L. (2010). The effects of loose group versus individual stall transport on glucocorticosteroids and dehydroepiandrosterone in yearling horses. *J. Equine Vet. Sci.*, 30(12): 696-700.
- Gee, E.K.; Dicken, M.; Archer, R.M.; Herdan, C.L.; Pauwels, F.E.; Drayton, B.M. (2012). Granulosa theca cell tumour in a pregnant mare: concentrations of inhibin and testosterone in serum before and after surgery. *N. Z. Vet. J.*, 60(2): 160–163.
- Genazzani, A.R.; Petraglia, F.; Parrini, D.; Nasi, A.; Angioni, G.; Facchinetti, F.; Facchini, V.; Volpe, A. (1984). Lack of correlation between amniotic fluid and maternal plasma contents of beta-endorphin, beta-lipotropin, and adrenocorticotrophic hormone in normal and pathologic pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 148(2): 198–203.
- Gentili, A.; Mulligan, T.; Godschalk, M.; Clore, J.; Patrie, J.; Iranmanesh, A.; Veldhuis, J.D. (2002). Unequal impact of short-term testosterone repletion on the somatotrophic axis of young and older men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 87(2): 825–834.
- Gentry, L.R.; Thompson, D.L.; Gentry, G.T.; Davis, K.A.; Godke, R.A.; Cartmill, J.A. (2002). The relationship between body condition, leptin, and reproductive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period. *J. Anim. Sci.*, 80(10): 2695–2703.
- Geor, R.J. (2007). Acute renal failure in horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 23(3): 577–591.
- Geor, R.J.; Hinchcliff, K.W.; McCutcheon, L.J.; Sams, R.A. (1985b). Epinephrine inhibits exogenous glucose utilization in exercising horses. *J. Appl. Physiol.*, 88(5): 1777-1790.
- Geor, R.J.; Hinchcliff, K.W.; Sams, R.A. (1985a). Beta-adrenergic blockade augments glucose utilization in horses during graded exercise. *J. Appl. Physiol.*, 89(3): 1086-1098.
- George, L.A.; Staniar, W.B.; Cubitt, T.A.; Treiber, K.H.; Harris, P.A.; Geor, R. J. (2011). Evaluation of the effects of pregnancy on insulin sensitivity, insulin secretion, and glucose dynamics in Thoroughbred mares. *Am. J. Vet. Res.*, 72(5): 666–674.
- Gershon, M.D.; Tack, J. (2007). The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology*, 132(1): 397–414.
- Gerstenberg, C.; Allen, W.R.; Stewart, F. (1999). Factors controlling epidermal growth factor (EGF) gene expression in the endometrium of the mare. *Mol. Reprod. Dev.*, 53(3): 255–265.
- Ghosh, S.K.; Raheja, S.; Tuli, A. Raghunandan, C.; Agarwal, S. (2012). Serum PIGF as a potential biomarker for predicting the onset of preeclampsia. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 285(2): 419-422.
- Giampietro, A.; Milardi, D.; Bianchi, A.; Fusco, A.; Cimino, V.; Valle, D.; Marana, R.; Pontecorvi, A.; De Marinis, L. (2009). The effect of treatment with growth hormone on fertility outcome in eugonadal women with growth hormone deficiency: report of four cases and review of the literature. *Fertil. Steril.*, 91(3): 7-11.

- Giannakouloupoulos, X.; Teixeira, J.; Fisk, N.; Glover, V. (1999). Human fetal and maternal noradrenaline responses to invasive procedures. *Pediatr. Res.*, 45(4 Pt 1): 494–499.
- Giannetto, C.; Fazio, F.; Alberghina, D.; Panzera, M.; Piccione, G. (2013). Constant darkness disrupt daily rhythm of adrenocorticotrophin in horses. *J. Appl. Biomed.*, 11: 41–45.
- Gibbs, D.M. (1985). Hypothalamic epinephrine is released into hypophysial portal blood during stress. *Brain, Res.*, 335(2): 360-364.
- Gibney, J.; Healy, M.L.; Sönksen, P.H. (2007). The growth hormone/insulin-like growth factor I axis in exercise and sport. *Endocr. Rev.*, 28(6): 603-624.
- Gibson, D.A.; Greaves, E.; Critchley, H.O.; Saunders, P.T. (2015). Estrogen-dependent regulation of human uterine natural killer cells promotes vascular remodelling via secretion of CCL2. *Hum. Reprod.*, 30(6): 1290–1301.
- Gibson, J.M.; Aplin, J.D.; White, A.; Westwood, M. (2001). Regulation of IGF bioavailability in pregnancy. *Mol. Hum. Reprod.*, 7(1): 79–87.
- Gigante, B.; Morlino, G.; Gentile, M.T.; Persico, M.G.; De Falco, S. (2006). Plgf-/eNos-/- mice show defective angiogenesis associated with increased oxidative stress in response to tissue ischemia. *FASEB J.*, 20(7): 970–972.
- Gigante, B.; Tarsitano, M.; Cimini, V.; De Falco, S.; Persico, M.G. (2004). Placenta growth factor is not required for exercise-induced angiogenesis. *Angiogenesis*, 7(3): 277–284.
- 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.; Flisinska-Bojanowska, A.; Grzelkowska, K. (1994). Diurnal and 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.; 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. A. Comp. Physiol.*, 81(3): 511-523.
- 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.
- Ginther, O.J. (1992). *Reproductive Biology of the Mare, Basic and Applied Aspects*. 2^a ed. Equiservices, Cross Plains, Wisconsin.
- Girault, J.; Greengard, P. (2004). The neurobiology of dopamine signaling. *Arch. Neurol.*, 61: 641–644.
- Giussani, D.A.; Forhead, A.J.; Fowden, A.L. (2005). Development of cardiovascular function in the horse fetus. *J. Physiol.*, 565(3): 1019–1030.
- Godfrey, R.J.; Madgwick, Z.; Whyte, G.P. (2003). The exercise-induced growth hormone response in athletes. *Sports Med.*, 33(8): 599–613.
- Gohary, K.; LeBlanc, S.J.; Lissemore, K.D.; Overton, M.W.; Von Massow, M.; Duffield, T.F. (2014). Effect of prepartum administration of recombinant bovine somatotropin on health and performance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 97(10): 6231-6241.
- Goland, R.S.; Conwell, I.M.; Warren, W.B.; Wardlaw, S. (1992). Placental Corticotropin-Releasing Hormone and Pituitary-Adrenal Function during Pregnancy. *Neuroendocrinology*, 56(5): 742–749.

- Goland, R.S.; Jozak, S.; Conwell, I. (1994). Placental corticotropin-releasing hormone and the hypercortisolism of pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 171(5): 1287–1291.
- Gold, J.R.; Divers, T.J.; Barton, M.H.; Lamb, S.V.; Place, N.J.; Mohammed, H.O.; Bain, F.T. (2007). Plasma adrenocorticotropin, cortisol, and adrenocorticotropin/cortisol ratios in septic and normal-term foals. *J. Vet. Intern. Med.*, 21(4): 791-796.
- Goldenberg, N.; Barkan, A. (2007). Factors regulating growth hormone secretion in humans. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.*, 36(1): 37-55.
- Goldstein, D.; Eisenhofer, G.; Kopin, I.J. (2003). Sources and significance of plasma levels of catechols and their metabolites in humans. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 305(3): 800-811.
- Goldstein, D.S.; Swoboda, K.J.; Miles, J.M.; Coppack, S.W.; Aneman, A.; Holmes, C.; Lamensdorf, I.; Eisenhofer, G. (1999). Sources and physiological significance of plasma dopamine sulfate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 84(7): 2523–2531.
- González, O.; González, E.; Sánchez, C.; Pinto, J.; González, I.; Enríquez, O.; Martínez, R.; Filgueira, G.; White, A. (1998). Effect of exercise on erythrocyte beta-adrenergic receptors and plasma concentrations of catecholamines and thyroid hormones in Thoroughbred horses. *Equine Vet. J.*, 30(1): 72-78.
- González, S.; Moreno-Delgado, D.; Moreno, E.; Pérez-Capote, K.; Franco, R.; Mallol, J.; Cortés, A.; Casadó, V.; Lluís, C.; Ortiz, J.; Ferré, S.; Canela, E.; McCormick, P.J. (2012). Circadian-related heteromerization of adrenergic and dopamine D₄ receptors modulates melatonin synthesis and release in the pineal gland. *Plos Biol.*, 10(6): e1001347.
- Goodrich, L.R.; Hidaka, C.; Robbins, P.D.; Evans, C.H.; Nixon, A.J. (2007). Genetic modifications of chondrocytes with insulin-like growth factor 1 enhances cartilage healing in an equine model. *J. Bone Joint Surg.*, 89(5): 672-685.
- Gopalakrishnan, K.; Mishra, J.S.; Chinnathambi, V.; Vincent, K.L.; Patrikeev, I.; Motamedi, M.; Saade, G.R.; Hankins, G.D.; Sathishkumar, K. (2016). Elevated testosterone reduces uterine blood flow, spiral artery elongation, and placental oxygenation in pregnant rats. *Hypertension*, 67(3): 630-639.
- 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.
- Górecka-Bruzda, A.; Suwala, M.; Kaminska, B.; Jezierski, T. (2015). Profiles of oestradiol, testosterone and androstenedione in stable vs. forest born young Konik Polski horses. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 33(2): 137-146.
- Gourvas, V.; Dalpa, E.; Konstantinidou, A.; Vrachnis, N.; Spandidos, D.A.; Sifakis, S. (2012). Angiogenic factors in placentas from pregnancies complicated by fetal growth restriction (Review). *Mol. Med. Rep.*, 6(1): 23–27.
- Grant, P.A.; Kind, K.L.; Roberts, C.T.; Sohlstrom, A.; Owens, P.C.; Owens, J.A. (2005). Late pregnancy increases hepatic expression of insulin-like growth factor-I in well nourished guinea pigs. *Growth Horm. IGF Res.*, 15(2): 165–171.
- Gray, S.M.; Bartell, P.A.; Staniar, W.B. (2013). High glycemic and insulinemic responses to meals affect plasma growth hormone secretory characteristics in Quarter Horse weanlings. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 44(4): 165–175.
- Green, M.L.; Simmen, R.C.; Simmen, F.A. (1995). Developmental regulation of steroidogenic enzyme gene expression in the periimplantation porcine conceptus: a

- paracrine role for insulin-like growth factor-I. *Endocrinology*, 136(9): 3961-3970.
- Grimmett, A.; Sillence, M.N. (2005). Calmatives for the excitable horse: a review of L-tryptophan. *Vet. J.*, 170(1): 24-32.
- Grobman, W.A.; Kazer, R.R. (2001). Serum insulin, insulin-like growth factor-I, and insulin-like growth factor binding protein-1 in women who develop preeclampsia. *Obstet. Gynecol.*, 97(4): 521-526.
- Gruson, D.; Yuemo, C.D.; Classen, J.F.; Lepoutre, T.; Piquard, N.; Debiève, F. (2013). First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 are significantly related to PAPP-A levels. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 51(4): 49-51.
- Gu, W.; Jones, C.T. (1986). The effect of elevation of maternal plasma catecholamines on the fetus and placenta of the pregnant sheep. *J. Dev. Physiol.*, 8(3): 173-186.
- Guevara-Aguirre, J.; Balasubramanian, P.; Guevara-Aguirre, M.; Wei, M.; Madia, F.; Cheng, C.W.; Huang, D.; Martin-Montalvo, A.; Saavedra, J.; Ingles, S.; de Cabo, R.; Cohen, P.; Longo, V.D. (2011). Growth hormone receptor deficiency is associated with a major reduction in pro-aging signaling, cancer, and diabetes in humans. *Sci. Transl. Med.*, 3(70): 70ra13.
- Guillaume, D.; Chavatte-Palmer, P.; Daels, P.F. (2003). Induced lactation with a dopamine antagonist in mares: different responses between ovariectomized and intact mares. *Reprod. Domest. Anim.*, 38(5): 394-400.
- Guillemin, R.; Brazeau, P.; Böhlen, P.; Esch, F.; Ling, N.; Wehrenberg, W.B. (1982). Growth hormone releasing factor from a human pancreatic tumor that caused acromegaly. *Science*, 218(4572): 585-587.
- Guillin, O.; Abi-Dargham, A.; Laruelle, M. (2007). Neurobiology of dopamine in schizophrenia. *Int. Rev. Neurobiol.*, 78: 1-39.
- Gujrati, V.R.; Shanker, K.; Vrat, S.; Chandravati; Parmar, S.S. (1996). Novel appearance of placental nuclear monoamine oxidase: biochemical and histochemical evidence for hyperserotonomic state in preeclampsia-eclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 175(6): 1543-1550.
- Guler, A.; Poulin, N.; Mermillod, P.; Terqui, M.; Cognié, Y. (2000). Effect of growth factors, EGF and IGF-I, and estradiol on in vitro maturation of sheep oocytes. *Theriogenology*, 54(2): 209-218.
- Gunawardane, K.; Krarup Hansen, T.; Sandahl Christiansen, J.; Lunde Jorgensen, J. O. (2015). Normal Physiology of Growth Hormone in Adults. En: *Endotext* [Internet]. Comprehensive free online endocrinology book. De Groot, L.J.; Chrousos, G.; Dungan, K.; Feingold, K.R.; Grossman, A.; Hershman, J.M.; Kock, C.; Korbonits, M.; Mclachlan, R.; New, M.; Purnell, J.; Rebar, R.; Singer, F.; Vinik, A. (eds.) South Dartmouth (MA): MDText.com. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279056/>
- Guo, C.M.; Zhu, X.O.; Ni, X.T.; Yang, Z.; Myatt, L.; Sun, K. (2009). Expression of progesterone receptor A form and its role in the interaction of progesterone with cortisol on cyclooxygenase-2 expression in amnionic fibroblasts. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 94(12): 5085-5092.
- Gust, D.A.; Wilson, M.E.; Stocker, T.; Conrad, S.; Plotsky, P.M.; Gordon, T.P. (2000). Activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis is altered by aging and exposure to social stress in female rhesus monkeys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 85(7): 2556-2563.
- Guyton, A.C.; Hall, J.E. (2006). *Textbook of Medical Physiology*. Guyton, A.C.; Hall, J.E. (eds.) 11^a Ed. W.B. Saunders, Philadelphia, PA.
- Hackl, S.; van den Hoven, R.; Zickl, M.; Spona, J.; Zentek, J. (2009). The effects of short intensive exercise on plasma free

- amino acids in Standardbred trotters. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*, 93(2): 165-173.
- Hadjikhani, N. (2010). Serotonin, pregnancy and increased autism prevalence: is there a link? *Med. Hypotheses*, 74(5): 880–883.
- Haffner, J.C.; Fecteau, 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(4): 537–543.
- Hafiz, S.; Dennis, J.C.; Schwartz, D.; Judd, R.; Tao, Y.X.; Khazal, K.; Akingbemi, B.; Mo, X.L.; Abdel-Mageed, A.B.; Morrison, E.; Mansour, M. (2012). Expression of melanocortin receptors in human prostate cancer cell lines: MC2R activation by ACTH increases prostate cancer cell proliferation. *Int. J. Oncol.*, 41(4): 1373-1380.
- Hahn, C.N.; Mayhew, I.G.; de Lahunta, A. (2001). Central neuropathology of equine grass sickness. *Acta Neuropathol.*, 102(2): 153–159.
- Hammond, G.L. (2011). Diverse roles for sex hormone-binding globulin in reproduction. *Biol. Reprod.*, 85(3): 431–441.
- Hampson, L.J.; Mackin, P.; Agius, L. (2007). Stimulation of glycogen synthesis and inactivation of phosphorylase in hepatocytes by serotonergic mechanisms, and counter-regulation by atypical antipsychotic drugs. *Diabetologia*, 50: 1743–1751.
- Han, X.; Fowden, A.L.; Silver, M.; Holdstock, N.; Mcgladdery, A.; Ousey, J.; Allen, W.R.; Rosedale, P.D.; Challis, J.R.G. (1995). Immunohistochemical localization of steroidogenic enzymes and phenylethalamine-N-methyl transferase (PNMT) in the adrenal gland of the fetal and newborn foal. *Equine Vet. J.*, 27(2): 140-146.
- Handelsman, D.J. (2013). Androgen physiology, pharmacology and abuse. *En: Endotext [Internet]. Comprehensive free online endocrinology book.* De Groot, L.J.; Chrousos, G.; Dungan, K.; Feingold, K.R.; Grossman, A.; Hershman, J.M.; Kock, C.; Korbonits, M.; Mclachlan, R.; New, M.; Purnell, J.; Rebar, R.; Singer, F.; Vinik, A. (eds.) South Dartmouth (MA): MDText.com. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279000/>.
- Handwerker, S.; Freemark, M. (2000). The roles of placental growth hormone and placental lactogen in the regulation of human fetal growth and development. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 13(4): 343–356.
- Hardee, G.E.; Wang Lai, J.; Semrad, S.D.; Trim, C.M. (1982). Catecholamines in equine and bovine plasmas. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 5(4): 279–284.
- Harewood, E.J.; McGowan, C.M. (2005). Behavioral and physiological responses to stabling in naive horses. *J. Equine Vet. Sci.*, 25(4): 164-170.
- Haritou, S.J.; Zylstra, R.; Ralli, C.; Turner, S.; Tortonese, D.J. (2008). Seasonal changes in circadian peripheral plasma concentrations of melatonin, serotonin, dopamine and cortisol in aged horses with Cushing's disease under natural photoperiod. *J. Neuroendocrinol.*, 20(8): 988-996.
- Hart, K.A.; Barton, M.H. (2011). Adrenocortical insufficiency in horses and foals. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 27(1): 19–34.
- Hart, K.A.; Slovis, N.M.; Barton, M.H. (2009). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction in hospitalized neonatal foals. *J. Vet. Intern. Med.*, 23(4): 901–912.
- 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. Haematol. Int.*, 4(1): 25-29.

- Harvey, S.; Hull, K.L. (1997). Growth hormone. A paracrine growth factor? *Endocrine*, 7(3): 267–279.
- Hasegawa, T.; Sato, F.; Nambo, Y.; Ishida, N. (2001). Expression of steroidogenic enzyme genes in the equine fetoplacental unit. *J. Equine Sci.*, 12(1): 25–32.
- Hashizume, T.; Takahashi, Y.; Numata, M.; Sasaki, K.; Ueno, K.; Ohtsuki, K.; Ishii, A. (1999). Plasma profiles of growth hormone, prolactin and insulin-like growth factor-I during gestation, lactation and the neonatal period in goats. *J. Reprod. Dev.*, 45(4): 273–281.
- Hatakeyama, H.; Inaba, S.; Taniguchi, N.; Miyamori, I. (2000). Functional adrenocorticotrophic hormone receptor in cultured human vascular endothelial cells: possible role in control of blood pressure. *Hypertension*, 36(5): 862–865.
- Hattori, K.; Heissig, B.; Wu, Y.; Dias, S.; Tejada, R.; Ferris, B.; Hicklin, D.J.; Zhu, Z.; Bohlen, P.; Witte, L.; Hendriks, J.; Hackett, N.R.; Crystal, R.G.; Moore, M.A.; Werb, Z.; Lyden, D.; Rafii, S. (2002). Placental growth factor reconstitutes hematopoiesis by recruiting VEGFR1(+) stem cells from bone-marrow microenvironment. *Nat. Med.*, 8(8): 841–849.
- Hatzinger, M.; Reul, J.M.; Landgraf, R.; Holsboer, F.; Neumann, I. (1996). Combined dexamethasone/CRH test in rats: hypothalamo-pituitary-adrenocortical system alterations in aging. *Neuroendocrinology*, 64(5): 349–356.
- Havern, R.L.; Whisnant, C.S.; Goodman, R.L. (1994). Dopaminergic structures in the ovine hypothalamus mediating estradiol negative feedback in anestrus ewes. *Endocrinology*, 134(4): 1905–1914.
- Hayashi, K.G.; Ushizawa, K.; Hosoe, M.; Takahashi, T. (2010). Differential genome-wide gene expression profiling of bovine largest and second-largest follicles: identification of genes associated with growth of dominant follicles. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 8: 11.
- Heap, R.B.; Hamon, M.; Allen, W.R. (1982). Studies on oestrogen synthesis by the preimplantation equine conceptus. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 32: 343–352.
- Hedberg, Y.; Dalin, A.M.; Forsberg, M.; Lundeheim, N.; Sandh, G.; Hoffmann, B.; Ludwig, C.; Kindahl, H. (2007b). Effect of ACTH (tetracosactide) on steroid hormone levels in the mare. Part B: effect in ovariectomized mares (including estrous behavior). *Anim. Reprod. Sci.*, 100(1-2): 92–106.
- Hedberg, Y.; Dalin, A.M.; Kindahl, H. (2005). Stress and reproduction in the mare including studies on the effect of ACTH on steroid hormone levels and oestrous behaviour. En: 56th Annual Meeting of the European Association for Animal Production (EAAP), Uppsala, Sweden, session code: Ph2.2. pp. 1–9.
- Hedberg, Y.; Dalin, A.M.; Forsberg, M.; Lundeheim, N.; Hoffmann, B.; Ludwig, C.; Kindahl, H. (2007a). 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(1-2): 73–91.
- Hedström, M.; Sjöberg, K.; Brosjö, E.; Aström, K.; Sjöberg, H.; Dalén, N. (2002). Positive effects of anabolic steroids, vitamin D and calcium on muscle mass, bone mineral density and clinical function after a hip fracture. A randomised study of 63 women. *J. Bone Joint Surg. Br.*, 84(4): 497–503.
- Hegstad, R.L.; Johnston, S.D.; Pasternak, D.M. (1990). Effects of sample handling on adrenocorticotropin concentration measured in canine plasma, using a commercially available radioimmunoassay kit. *Am. J. Vet. Res.*, 51(12): 1941–1947.
- Heidler, B.; Parvizi, N.; Sauerwein, H.; Bruckmaier, R.M.; Heintges, U.; Aurich, J.E.;

- Aurich, C. (2003). Effects of lactation on metabolic and reproductive hormones in Lipizzaner mares. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 25(1): 47–59.
- Hellgren, C. (2013). Physiological stress reactivity in late pregnancy. *Acta Universitatis Upsaliensis. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine 887*, Uppsala, Sweden, pp. 1-70.
- Hemmann, K.; Raekallio, M.; Kanerva, K.; Hänninen, L.; Pastell, M.; Palviainen, M.; Vainio, O. (2012). Circadian variation in ghrelin and certain stress hormones in crib-biting horses. *Vet. J.*, 193(1): 97–102.
- Henderson, K.; Stevens, S.; Bailey, C.; Hall, G.; Stewart, J.; Wards, R. (1998). Comparison of the merits of measuring equine chorionic gonadotrophin (eCG) and blood and faecal concentrations of oestrone sulphate for determining the pregnancy status of miniature horses. *Reprod. Fertil. Dev.*, 10(5): 441–444.
- Henderson, K.; Stewart, J. (2000). A dipstick immunoassay to rapidly measure serum oestrone sulfate concentrations in horses. *Reprod. Fertil. Dev.*, 12(3-4): 183-189.
- Henderson, K.M.; Eayrs, K. (2004). Pregnancy status determination in mares using a rapid lateral flow test for measuring serum oestrone sulphate. *N. Z. Vet. J.*, 52(4): 193–196.
- Herlenius, E.; Lagercrantz, H. (2001). Neurotransmitters and neuromodulators during early human development. *Early Hum. Dev.*, 65(1): 21–37.
- Hernandez, L.L.; Gregerson, K.A.; Horseman, N.D. (2012). Mammary gland serotonin regulates parathyroid hormone-related protein and other bone-related signals. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 302: 1009–1015.
- Hernandez, L.L.; Stiening, C.M.; Wheelock, J.B.; Baumgard, L.H.; Parkhurst, A.M. Collier, R.J. (2008). Evaluation of serotonin as a feedback inhibitor of lactation in the bovine. *J. Dairy Sci.*, 91(5): 1834–1844.
- Hernandez, M.E.; Martinez-Fong, D.; Perez-Tapia, M.; Estrada-Garcia, I.; Estrada-Parra, S.; Pavón, L. (2010). Evaluation of the effect of selective serotonin-reuptake inhibitors on lymphocyte subsets in patients with a major depressive disorder. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 20(2): 88–95.
- Hernández-Valencia, M.; Rivera, M.A.M.; Vargas, L.C.; Páez, A J.A.; Vargas, G.A.; Zárate, A. (2007). Modificación de las concentraciones de catecolaminas durante el embarazo de mujeres con diabetes y preeclampsia. *Ginecol. Obstet. Mex.*, 75(8): 454–458.
- Herrler, A.; Krusche, C.A.; Beier, H.M. (1998). Insulin and insulin-like growth factor-I promote rabbit blastocyst development and prevent apoptosis. *Biol. Reprod.*, 59(6): 1302–1310.
- Herrler, A.; Pell, J.M.; Allen, W.R.; Beier, H.M.; Stewart, F. (2000). Horse conceptuses secrete insulin-like growth factor-binding protein 3. *Biol. Reprod.*, 62(6): 1804–1811.
- Hervig, T.A.; Farstad, M.; Vollset, S.E. (1996). Endogenous serotonin in human blood platelets: factors that may influence reference values. *Platelets*, 7(1–2): 47–52.
- Hess-Dudan, F.; Vacher, P.Y.; Bruckmaier, R.M.; Weishaupt, M.A.; Burger, D.; Blum, J.W. (1994). Immunoreactive insulin-like growth factor I and insulin in blood plasma and milk of mares and in blood plasma of foals. *Equine Vet. J.*, 26(2): 134–139.
- Higgins, M.F.; Russell, N.E.; Crossey, P.A.; Nyhan, K.C.; Brazil, D.P.; McAuliffe, F.M. (2012). Maternal and fetal placental growth hormone and IGF axis in type 1 diabetic pregnancy. *Plos One*, 7(2): e29164.
- Hills, F.A.; Elder, M.G.; Chard, T.; Sullivan, M.H. (2004). Regulation of human villous trophoblast by insulin-like growth factors

- and insulin-like growth factor-binding protein-1. *J. Endocrinol.*, 183(3): 487–496.
- Hills, F.A.; English, J.; Chard, T. (1996). Circulating levels of IGF-I and IGF-binding protein-1 throughout pregnancy: relation to birthweight and maternal weight. *J. Endocrinol.*, 148(2): 303–309.
- Hinchcliff, K.W.; Rush, B.R.; Farris, J.W. (2005). Evaluation of plasma catecholamine and serum cortisol concentrations in horses with colic. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 227(2): 276–280.
- Hindberg, I.; Naesh, O. (1992). Serotonin concentrations in plasma and variations during the menstrual cycle. *Clin. Chem.*, 38(10): 2087–2089.
- Hiramoto, K.; Yamate, Y.; Kobayashi, H. (2014). Relationship between alteration of the peptide hormone levels and depression during the gestation period. *Res. J. Endocrinol. Metab.*, 2:1.
- Hodgson, T.K.; Braunstein, G.D. (2007). Physiological effects of androgens in women. En: *Contemporary endocrinology. Androgen excess disorders in women: polycystic ovary syndrome and other disorders.* Azziz, R.; Nestler, J.E.; Dewailly, D. (eds). 2nd edition. Humana Press, Totowa, New Jersey, pp. 49–62.
- Hodická, Z.; Bienertová-Vasku, J.; Ventruba, P.; Vasku, A. (2012). Adrenocorticotropin hormone-possible marker of pregnancy pathologies. *Ceska Gynekol.*, 77(2): 142–144.
- Hodson, N.P.; Wright, J.A.; Hunt, J. (1986). The sympatho-adrenal system and plasma concentrations of adrenocorticotrophic hormone, cortisol and catecholamines in equine grass sickness. *Vet. Rec.*, 118(6): 148–150.
- Hoffman, R.M.; Kronfeld, D.S.; Cooper, W.L.; Harris, P.A. (2003). Glucose clearance in grazing mares is affected by diet, pregnancy, and lactation. *J. Anim. Sci.*, 81(7): 1764–1771.
- Hoffmann, B.; Bernhardt, A.W.; Failling, K.; Schuler, G. (2014). Profiles of estrone, estrone sulfate and progesterone in donkey (*Equus asinus*) mares during pregnancy. *Tierarztl. Prax. Ausg. G. Grosstiere Nutztiere*, 42(1): 32–39.
- Hoffsis, G.F.; Murdick, P.W.; Tharp, V.L.; Ault, K. (1970). Plasma concentrations of cortisol and corticosterone in the normal horse. *Am. J. Vet. Res.*, 31(8): 1379–1387.
- Hofland, L.J. (2008). Somatostatin and somatostatin receptors in Cushing's disease. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 286(1–2): 199–205.
- Hogan, P.; Rees, L.H.; Lowry, P.J.; Ratter, S.; Suitcher, E.J. (1976). Studies on the stability of human adrenocorticotrophin in blood and plasma. *J. Endocrinol.* 71:63–64.
- Hollis, A.R.; Ousey, J.C.; Palmer, L.; Stephen, J.O.; Stoneham, S.J.; Boston, R.C.; Corley, K.T. (2008). Effects of norepinephrine and combined norepinephrine and fenoldopam infusion on systemic hemodynamics and indices of renal function in normotensive neonatal foals. *J. Vet. Intern. Med.*, 22(5): 1210–1215.
- Hollis, A.R.; Ousey, J.C.; Palmer, L.; Stoneham, S.J.; Corley, K.T. (2006). Effects of fenoldopam mesylate on systemic hemodynamics and indices of renal function in normotensive neonatal foals. *J. Vet. Intern. Med.*, 20(3): 595–600.
- Holmes, D.I.; Zachary, I. (2005). The vascular endothelial growth factor (VEGF) family: angiogenic factors in health and disease. *Genome Biol.*, 6(2): 209.
- Holmes, R.P.; Holly, J.M.; Soothill, P.W. (1998). A prospective study of maternal serum insulin-like growth factor-I in pregnancies with appropriately grown or growth restricted fetuses. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 105(12): 1273–1278.
- Holt, R.I.; Simpson, H.L.; Sönksen, P.H. (2003). The role of the growth hormone-

- insulin-like growth factor axis in glucose homeostasis. *Diabet. Med.*, 20(1): 3–15.
- Holtan, D.W.; Nett, T.M.; Estergreen, V.L. (1975). Plasma progestagens in pregnant mares. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 23: 419-424.
- Holtan, D.W.; Squires, E.L.; Lapin, D.R.; Ginther, O.J. (1979). Effect of ovariectomy on pregnancy in mares. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 27: 457-463.
- Holtan, D.W.; Houghton, E.; Silver, M.; Fowden, A.L.; Ousey, J.; Rosedale, P.D. (1991). Plasma progestagens in the mare, fetus and newborn foal. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 44: 517-528.
- Holzman, C.; Senagore, P.; Tian, Y.; Bullen, B.; Devos, E.; Leece, C.; Zanella, A.; Fink, G.; Rahbar, M.H.; Sapkal, A. (2009). Maternal catecholamine levels in midpregnancy and risk of preterm delivery. *Am. J. Epidemiol.*, 170(8): 1014–1024.
- Hood, D.M. (1999). Laminitis as a systemic disease. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 15(2): 481–494.
- Hori, Y.; Ozaki, T.; Yamada, Y.; Tozaki, T.; Kim, H.S.; Takimoto, A.; Endo, M.; Manabe, N.; Inoue-Murayama, M.; Fujita, K. (2013). Breed differences in dopamine receptor D4 gene (DRD4) in horses. *J. Equine Sci.*, 24(3): 31–36.
- Horohov, D.W.; Kydd, J.H.; Hannant, D. (2002). The effect of aging on T cell responses in the horse. *Dev. Comp. Immunol.*, 26(1): 121–128.
- Hou, L.; Taylor, R.N.; Shu, Y.; Johnston-MacAnanny, E.B.; Yalcinkaya, T.M. (2014). Vascular endothelial growth factor (VEGF) and placental growth factor (PLGF) directly correlate with ovarian follicle size in women undergoing in vitro fertilization (IVF). *Fertil. Steril.*, 102(3): e256.
- Haupt, K.; Haupt, T.R.; Johnson, J.L.; Erb, H.N.; Yeon, S.C. (2001). The effect of exercise deprivation on the behavior and physiology of straight stall confined mares. *Anim. Welfare*, 10(3): 257-267.
- Howden, K.J. (2004). Androgen insensitivity syndrome in a Thoroughbred mare (64, XY-testicular feminization). *Can. Vet. J.*, 45(6): 501–503.
- Huff, N.K.; Thompson, D.L.Jr.; Mitcham, P.B.; Storer, W.A. (2010). Hyperleptinemia in horses: responses to administration of a small dose of lipopolysaccharide endotoxin in mares and geldings. *J. Anim.Sci.*, 88(3): 926–936.
- Hull, K.; Harvey, S. (2006). Growth hormone and cancer. En: *The molecular and cellular pathology of cancer progression and prognosis*. Sherbet, G.V. (ed.), Research Signpost, Kerala, India.
- Hull, K.L.; Harvey, S. (2001). Growth hormone: roles in female reproduction. *J. Endocrinol.*, 168(1): 1–23.
- Hull, K.L.; Harvey, S. (2002). GH as a gonadotropin: the relevance of correlative changes in GH secretion and reproductive state. *J. Endocrinol.*, 172(1): 1–19.
- Hull, K.L.; Harvey, S. (2014). Growth hormone and reproduction: A Review of Endocrine and Autocrine / Paracrine Interactions. *Int. J. Endocrinol.*, 234014: 1–24.
- Hurault-Delarue, C.; Montastruc, J., Beau, A.; Lacroix, I.; Damase-Michel, C. (2014). Pregnancy outcome in women exposed to dopamine agonists during pregnancy: a pharmacoepidemiology study in EFEMERIS database. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 290(2): 263–270.
- 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.
- Hussain, T.; Abdul-Wahab, R.; Kotak, D.K.; Lokhandwala, M.F. (1998). Bromocriptine regulates angiotensin II response on

- sodium pump in proximal tubules. *Hypertension*, 32(6): 1054–1059.
- Hyypä, S.; Karvonen, U.; Räsänen, L.A.; Persson, S.G.B.; Pösö, A.R. (1997). Androgen receptors and skeletal muscle composition in trotters treated with nandrolone laurate. *J. Vet. Med. Series A*, 44: 481–491.
- Il'ková, G.; Reháč, P.; Veselá, J.; Cikos, S.; Fabian, D.; Czikková, S.; Koppel, J. (2004). Serotonin localization and its functional significance during mouse preimplantation embryo development. *Zygote*, 12(3): 205–213.
- Ingram, J.R.; Crockford, J.N.; Matthews, L.R. (1999). Ultradian, circadian and seasonal rhythms in cortisol secretion and adrenal responsiveness to ACTH and yarding in unrestrained red deer (*Cervus elaphus*) stags. *J. Endocrinol.*, 162(2): 289–300.
- Inoue, J.; Cerbito, W.A.; Oguri, N.; Matsuzawa, T.; Sato, K. (1993). Serum levels of testosterone and oestrogens in normal and infertile stallions. *Int. J. Androl.*, 16(2): 155–158.
- Ireland, F.A.; Loch, W.E.; Worthy, K.; Anthony, R.V. (1991). Effects of bromocriptine and perphenazine on prolactin and progesterone concentrations in pregnant pony mares during late gestation. *J. Reprod. Fert.*, 92: 179–186.
- Irvine, C.H.G.; Alexander, S.L. (1994). Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 11(2): 227–238.
- Irvine, K.L.; Burt, K.; Hill, A.J.; Shaw, S.; Papisoulitis, K. (2016). Initial analytic quality assessment and method comparison of an immunoassay for adrenocorticotrophic hormone measurement in equine samples. *Vet. Clin. Pathol.*, 45(1): 154–163.
- Isales, C.M.; Zaidi, M.; Blair, H.C. (2010). ACTH is a novel regulator of bone mass. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1192: 110–116.
- Izadyar, F.; Colenbrander, B.; Bevers, N.M. (1996). In vitro maturation of bovine oocytes in the presence of growth hormone accelerates nuclear maturation and promotes subsequent embryonic development. *Mol. Reprod. Dev.*, 45(3): 372–377.
- Jackson, B.F.; Goodship, A.E.; Eastell, R.; Price, A.S. (2003b). Evaluation of serum concentrations of biochemical markers of bone metabolism and insulin-like growth factor I associated with treadmill exercise in young horses. *Am. J. Vet. Res.*, 64(12): 1549–1556.
- Jackson, B.F.; Lumshohn, A.; Goodship, A.E.; Wilson, A.M.; Price, J.S. (2003a). Circadian variation in biochemical markers of bone cell activity and insulin-like growth factor-I in two-year-old horses. *J. Anim. Sci.*, 81(11): 2804–2810.
- Jackson, C.R.; Ruan, G.X.; Aseem, F.; Abey, J.; Gamble, K.; Stanwood, G.; Palmiter, R.D.; Iuvone, P.M.; McMahon, D.G. (2012). Retinal dopamine mediates multiple dimensions of light-adapted vision. *J. Neurosci.*, 32(27): 9359–9368.
- Jadresic, A.; Banks, L.M.; Child, D.F.; Diamant, L.; Doyle, F.H.; Fraser, T.R.; Joplin, G.F. (1982). The acromegaly syndrome. Relation between clinical features, growth hormone values and radiological characteristics of the pituitary tumours. *Q. J. Med.*, 51(202): 189–204.
- Jailer, J.W.; Christy, N.P.; Longson, D.; Wallace, E.Z.; Gordon, W.E. (1959). Further observations on adrenal cortical function during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 78(1): 1–10.
- Jeevaratnam, K.; Nadarajah, V.D.; Judson, J.P.; Nalliah, S.; Abdullah, M.F. (2010). Periodic assessment of plasma sFlt-1 and PlGF concentrations and its association with placental morphometry in gestational

- hypertension (GH) - a prospective follow-up study. *BMC Pregnancy Childbirth*, 10: 58.
- Jenkinson, C.M.; Min, S.H.; Mackenzie, D.D.; McCutcheon, S.N.; Breier, B.H.; Gluckman, P.D. (1999). Placental development and fetal growth in growth hormone-treated ewes. *Growth Horm. IGF Res.*, 9(1): 11–17.
- Jeschke, U.; Mylonas, I.; Richter, D.U.; Hocker, I.; Briese, V.; Makrigiannakis, A.; Friese, K. (2005). Regulation of progesterone production in human term trophoblasts in vitro by CRH, ACTH and cortisol (prednisolone). *Arch. Gynecol. Obstet.*, 272(1): 7–12.
- Jeske, W.; Soszyński, P.; Lukaszewicz, E.; Debski, R.; Latoszevska, W.; Rogoziński, W.; Snochowska, H.; Zgliczyński, S. (1990). Enhancement of plasma corticotropin-releasing hormone in pregnancy-induced hypertension. *Acta Endocrinol.*, 122(6): 711–714.
- Jimenez, M.; Hinchcliff, K.W.; Farris, J.W. (1998). Catecholamine and cortisol responses of horses to incremental exertion. *Vet. Res. Commun.*, 22(2): 107–118.
- Jirecek, S.; Joura, E.A.; Tempfer, C.; Knöfler, M.; Husslein, P.; Zeisler, H. (2003). Elevated serum concentrations of androgens in women with pregnancy-induced hypertension. *Wien. Klin. Wochenschr.*, 115(5–6): 162–166.
- Jobe, S.O.; Tyler, C.T.; Magness, R.R. (2013). Aberrant synthesis, metabolism, and plasma accumulation of circulating estrogens and estrogen metabolites in preeclampsia implications for vascular dysfunction. *Hypertension*, 61(2): 480–487.
- Johannsson, G.; Mårin, P.; Lönn, L.; Ottosson, M.; Stenlöf, K.; Björntorp, P.; Sjöström, L.; Bengtsson, B.A. (1997). Growth hormone treatment of abdominally obese men reduces abdominal fat mass, improves glucose and lipoprotein metabolism, and reduces diastolic blood pressure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 82(3): 727–734.
- Johnson, L.; Thompson, D.L.Jr. (1983). Age-related and seasonal variation in the Sertoli cell population, daily sperm production and serum concentrations of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone and testosterone in stallions. *Biol. Reprod.*, 29(3): 777–789.
- Johnson, P.J. (2002). The equine metabolic syndrome peripheral Cushing's syndrome. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 18(2): 271–293.
- Johnston, H.; King, P.J.; O'Shaughnessy, P.J. (2007). Effects of ACTH and expression of the melanocortin-2 receptor in the neonatal mouse testis. *Reproduction*, 133(6): 1181–1187.
- Johnstone, F.D.; Campbell, S. (1974). Adrenal response in pregnancy to long-acting tetracosactrin. *J. Obstet. Gynaecol. Br. Commonw.*, 81(5): 363–367.
- Joó, J.G.; Rigó, J.; Börzsönyi, B.; Demendi, C.; Kornya, L. (2016). Placental gene expression of the placental growth factor (PIGF) in intrauterine growth restriction. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.*, 5: 1–5.
- Jorgensen, H.S. (2007). Studies on the neuroendocrine role of serotonin. *Dan. Med. Bull.*, 54(4): 266–288.
- Jung, C.; Ho, J.T.; Torpy, D.J.; Rogers, A.; Doogue, M.; Lewis, J.G.; Czajko, R.J.; Inder, W.J. (2011). A longitudinal study of plasma and urinary cortisol in pregnancy and postpartum. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 96(5): 1533–1540.
- Kajihara, T.; Tanaka, K.; Oguro, T.; Tochigi, H.; Prechapanich, J.; Uchino, S.; Itakura, A.; Sucurovic, S.; Murakami, K.; Brosens, J.J.; Ishihara, O. (2014). Androgens modulate the morphological characteristics of human endometrial stromal cells decidualized in vitro. *Reprod. Sci.*, 21(3): 372–380.
- Kaminer, J.; Powers, A.S.; Horn, K.G.; Hui, C.; Evinger, C. (2011). Characterizing the

- spontaneous blink generator: an animal model. *J. Neurosci.*, 31(31): 11256–11267.
- Kanai, M.; Funakoshi, H.; Takahashi, H.; Hayakawa, T.; Mizuno, S.; Matsumoto, K.; Nakamura, T. (2009). Tryptophan 2,3-dioxygenase is a key modulator of physiological neurogenesis and anxiety-related behavior in mice. *Mol. Brain*, 2: 8.
- Kanitz, W.; Schneider, F.; Hoppen, H.O.; Unger, C.; Nürnberg, G.; Becker, F. (2007). Pregnancy rates, LH and progesterone concentrations in mares treated with a GnRH agonist. *Anim. Reprod. Sci.*, 97(1-2): 55-62.
- Kann, G. (1997). Evidence for a mammogenic role of growth hormone in ewes: effects of growth hormone-releasing factor during artificial induction of lactation. *J. Anim. Sci.*, 75(9): 2541–2549.
- Karalis, K.; Goodwin, G.; Majzoub, J.A. (1996). Cortisol blockade of progesterone: a possible molecular mechanism involved in the initiation of human labor. *Nat. Med.*, 2(5): 556-560.
- Karas, S.I.; Yazykov, K.G.; Makarova, E.V. (1995). Serotonin content in human blood platelets is not stable. *Clin. Chim. Acta*, 238(2): 179–186.
- Karumanchi, S.A.; Bdolah, Y. (2004). Hypoxia and sFlt-1 in preeclampsia: the chicken-and-egg question. *Endocrinology*, 145(11): 4835–4837.
- Kasdaglis, T.; Aberdeen, G.; Turan, O.; Kopelman, J.; Atlas, R.; Jenkins, C.; Blitzer, M.; Harman, C.; Baschat, A.A. (2010). Placental growth factor in the first trimester: relationship with maternal factors and placental Doppler studies. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 35(3): 280–285.
- Kasman, L.H.; Hughes, J.P.; Stabenfeldt, G.H.; Starr, M.D.; Lasley, B.L. (1988). Estrone sulfate concentrations as an indicator of fetal demise in horses. *Am. J. Vet. Res.*, 49(2): 184–187.
- Kedzia, A.; Tarka, A.; Petriczko, E.; Pruski, D.; Iwaniec, K. (2013). Placental growth hormone (PGH), pituitary growth hormone (GH1), insulin-like growth factor (IGF-I) and ghrelin in pregnant women blood serum. *Ginekol. Pol.*, 84(7): 620-623.
- Keller-Wood, M.; Wood, C.E. (2008). Regulation of maternal ACTH in ovine pregnancy: does progesterone play a role. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 295(4): E913-E920.
- Kelley, K.K.; Thompson, D.L.Jr.; Storer, W.A.; Mitcham, P.B.; Gilley, R.M.; Burns, P.J. (2006). Estradiol interactions with dopamine antagonists in mares: prolactin secretion and reproductive traits. *J. Equine Vet. Sci.*, 26(11): 517–528.
- Kendrick, K.M.; Keverne, E.B.; Hinton, M.R.; Goode, J.A. (1992). Oxytocin, amino acid and monoamine release in the region of the medial preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis of the sheep during parturition and suckling. *Brain Res.*, 569(2): 199–209.
- Khalil, A.M.; Murakami, N.; Kaseda, Y. (1998). Relationship between plasma testosterone concentrations and age, breeding season and harem size in Misaki feral horses. *J. Vet. Med. Sci.*, 60(5): 643–645.
- Khalilq, A.; Li, X.F.; Shams, M.; Sisi, P.; Acevedo, C.A.; Whittle, M.J.; Weich, H.; Ahmed, A. (1996). Localisation of placenta growth factor (PIGF) in human term placenta. *Growth Factors*, 13(3–4): 243–250.
- Khan-Dawood, F.S.; Gargiulo, A.R.; Dawood, M.Y. (1994). In vitro microdialysis of the ovine corpus luteum of pregnancy: effects of insulin-like growth factor on progesterone secretion. *Biol. Reprod.*, 51(6): 1299–1306.
- Khatun, S.; Kanayama, N.; Hossain, B.; el Maradny, E.; Kobayashi, T.; Jahan, S.; Bhuiyan, A.B.; Terao, T. (1996). Increased concentrations of plasma epinephrine and

- norepinephrine in patients with eclampsia. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 69(2): 61–67.
- Khozhai, L.I. (2016). Expression of serotonin transporter in the dorsal raphe nucleus during the early postnatal period in normal state and under prenatal deficiency of the serotonergic system in rats. *Zh. Evol. Biokhim. Fiziol.*, 52(1): 67–72.
- Khurana, R.; Moons, L.; Shafi, S.; Luttun, A.; Collen, D.; Martin, J.F.; Carmeliet, P.; Zachary, I.C. (2005). Placental growth factor promotes atherosclerotic intimal thickening and macrophage accumulation. *Circulation*, 111(21): 2828–2836.
- Kim, H.; Toyofuku, Y.; Lynn, F.C.; Chak, E.; Uchida, T.; Mizukami, H.; Fujitani, Y.; Kawamori, R.; Miyatsuka, T.; Kosaka, Y.; Yang, K.; Honig, G.; van der Hart, M.; Kishimoto, N.; Wang, J.; Yagihashi, S.; Tecott, L.H.; Watada, H.; German, M.S. (2010). Serotonin regulates pancreatic beta cell mass during pregnancy. *Nat. Med.*, 16(7): 804–808.
- Kim, H.J.; Koh, P.O.; Kang, S.S.; Paik, W.Y.; Choi, W.S. (2001). The localization of dopamine D2 receptor mRNA in the human placenta and the anti-angiogenic effect of apomorphine in the chorionallantoic membrane. *Life Sci.*, 68(9): 1031–1040.
- Kim, J.; Jeon, M.; Paeng, K.J.; Paeng, I.R. (2008). Competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of catecholamine, dopamine in serum. *Anal. Chim. Acta*, 619(1): 87–93.
- Kim, N.H.; Chung, K.S.; Day, B.N. (1997). The distribution and requirements of microtubules and microfilaments during fertilization and parthenogenesis in pig oocytes. *J. Reprod. Fertil.*, 111(1): 143–149.
- Kindahl, H.; Knudsen, O.; Madej, A.; Edqvist L.E. (1982). Progesterone, prostaglandin F-2 α , PMSG and oestrone sulphate during early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 32: 353–359.
- King, J.N.; Gerring, E.L. (1988). Detection of endotoxin in cases of equine colic. *Vet. Rec.*, 123(10): 269–271.
- King, S.S.; Campbell, A.G.; Dille, E.A.; Roser, J.F.; Murphy, L.L.; Jones, K.L. (2005). Dopamine receptors in equine ovarian tissues. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 28(4): 405–415.
- King, S.S.; Jones, K.L.; Mullenix, B.A.; Heath, D.T. (2008). Seasonal relationships between dopamine D1 and D2 receptor and equine FSH receptor mRNA in equine ovarian epithelium. *Anim. Reprod. Sci.*, 108(1-2): 259–266.
- Kishi, K.; Hirashiba, M.; Hasegawa, Y. (1991). Gestational profiles of rat placental lactogen-II (rPL-II) and growth hormone (GH) in maternal and fetal serum, amniotic fluid, and placental tissue. *Endocrinol. Jpn.*, 38(6): 589–595.
- Klimek, M. (2005). Comparative analysis of ACTH and oxytocinase plasma concentration during pregnancy. *Neuro Endocrinol. Lett.*, 26(4): 337–341.
- Klimek, M.; Wicherek, L.; Popiela, T.J.; Skotniczny, K.; Tomaszewska, B. (2005). Changes of maternal ACTH and oxytocinase plasma concentrations during the first trimester of spontaneous abortion. *Neuro Endocrinol. Lett.*, 4(26): 342–346.
- Knych, H.K.; Arthur, R.M.; Stanley, S.D.; McKemie, D.S. (2015). Disposition and metabolic profile of the weak androgen dehydroepiandrosterone (DHEA) following administration as part of a nutritional supplement to exercised horses. *Drug Test. Anal.*, 7(1): 39–47.
- Koenig, J.; Cote, N. (2006). Equine gastrointestinal motility--ileus and pharmacological modification. *Can. Vet. J.*, 47(6): 551–559.
- Kojima, M.; Hosoda, H.; Date, Y.; Nakazato, M.; Matsuo, H.; Kangawa, K. (1999). Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402(6762): 656–660.

- Kok, P.; Paulo, R.C.; Cosma, M.; Mielke, K.L.; Miles, J.M.; Bowers, C.Y.; Veldhuis, J. D. (2008). Estrogen supplementation selectively enhances hypothalamo-pituitary sensitivity to ghrelin in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 93(10): 4020–4026.
- Kokkinou, I.; Nikolouzou, E.; Hatzimanolis, A.; Fragoulis, E.G.; Vassilacopoulou, D. (2009). Expression of enzymatically active L-DOPA decarboxylase in human peripheral leukocytes. *Blood Cells. Mol. Dis.*, 42(1): 92–98.
- Kölle, S.; Stojkovic, M.; Prella, K.; Waters, M.; Wolf, E.; Sinowatz, F. (2001). Growth hormone (GH)/GH receptor expression and GH-mediated effects during early bovine embryogenesis. *Biol. Reprod.*, 64(6): 1826–1834.
- Köller, G.; Bassewitz, K.; Schusser, G.F. (2016). Reference ranges of insulin, insulin like growth factor-1 and adrenocorticotrophic hormone in ponies. *Tierärztl. Prax. Ausg. G. Grosstiere Nutztiere*, 44(1): 19–25.
- Koren, O.; Goodrich, J.K.; Cullender, T.C.; Spor, A.; Laitinen, K.; Bäckhed, H.K.; Gonzalez, A.; Werner, J.J.; Angenent, L.T.; Knight, R.; Bäckhed, F.; Isolauri, E.; Salminen, S.; Ley, R.E. (2012). Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell*, 150(3): 470–480.
- Kornalijnslijper, J.E.; Kemp, B.; Bevers, M.M.; van Oord, H.A.; Taverne, M.A. (1997). Plasma prolactin, growth hormone and progesterone concentrations in pseudopregnant, hysterectomized and pregnant goats. *Anim. Reprod. Sci.*, 49(2–3): 169–178.
- Kotwica, J.; Bogacki, M. (1999). Physiological importance of dopamine as a noradrenaline precursor in the corpus luteum. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. Suppl.*, 26: 29–35.
- Kotwica, J.; Skarzynski, D.; Bogacki, M.; Miszkiel, G. (1996). Influence of dopamine as noradrenaline precursor on the secretory function of the bovine corpus luteum in vitro. *Br. J. Pharmacol.*, 118(7): 1669–1674.
- Kowalski, A.A.; Vale-Cruz, D.S.; Simmen, F.A.; Simmen, R.C. (2004). Uterine androgen receptors: roles in estrogen-mediated gene expression and DNA synthesis. *Biol. Reprod.*, 70(5): 1349–1357.
- Krauss, T.; Pauer, H.U.; Augustin, H.G. (2004). Prospective analysis of Placenta Growth Factor (PlGF) concentrations in the plasma of women with normal pregnancy and pregnancies complicated by preeclampsia. *Hypertens. Pregnancy*, 23(1): 101–111.
- Kremer, H.P.; Goekoop J.G.; Van Kempen, G.M. (1990). Clinical use of the determination of serotonin in whole blood. *J. Clin. Psychopharmacol.*, 10(2): 83–87.
- Kubrusly, R.C.; Panizzutti, R.; Giardino, P.F.; Stutz, B.; Reis, R.A.; Ventura, A.L.; de Mello, M.C.; de Mello, F.G. (2008). Expression of functional dopaminergic phenotype in purified cultured Müller cells from vertebrate retina. *Neurochem. Int.*, 53(3–4): 63–70.
- Kumar, A.M.; Weiss, S.; Fernandez, J.B.; Cruess, D.; Eisdorfer, C. (1998). Peripheral serotonin levels in women: role of aging and ethnicity. *Gerontology*, 44(4): 211–216.
- Kurar, E.; Atli, M.O.; Kayis, S.A.; Arslan, S.; Ahmet, S.; Celik, S.; Guzeloglu, A. (2010). Expressions of insulin-like growth factor-binding proteins (IGFBP) in mare endometrium during estrous cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.*, 83(suppl. 1): 352.
- Kurosawa, M.; Nagata, S.; Takeda, F.; Mima, K.; Hiraga, A.; Kai, M.; Taya, K. (1998). Responses to exhaustive incremental treadmill exercise. *J. Equine Vet. Sci.*, 9(1): 9–18.

- Kurosawa, M.; Takeda, F.; Nagata, S.; Mima, K. (1997). Circadian variations in plasma adrenaline and noradrenaline in the Thoroughbred horse. *J. Equine Vet. Sci.*, 8(3): 81–88.
- Kushnir-Sukhov, N.M.; Gilfillan, A.M.; Coleman, J.W.; Brown, J.M.; Bruening, S.; Toth, M.; Metcalfe, D.D. (2006). 5-hydroxytryptamine induces mast cell adhesion and migration. *J Immunol.*, 177(9): 6422–6432.
- Laatikainen, T.; Virtanen, T.; Kaaja, R.; Salminen-Lappalainen, K. (1991): Corticotropin-releasing hormone in maternal and cord plasma in pre-eclampsia. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 39(1): 19–24.
- Lacey, H.; Haigh, T.; Westwood, M.; Aplin, J.D. (2002). Mesenchymally-derived insulin-like growth factor 1 provides a paracrine stimulus for trophoblast migration. *BMC Dev. Biol.*, 2: 5.
- Lacroix, M.C.; Guibourdenche, J.; Fournier, T.; Laurendeau, I.; Igout, A.; Goffin, V.; Pantel, J.; Tsatsaris, V.; Evain-Brion, D. (2005). Stimulation of human trophoblast invasion by placental growth hormone. *Endocrinology*, 146(5): 2434–2444.
- Lacroix, M.C.; Jammes, H.; Kann, G. (1996). Occurrence of a growth hormone-releasing hormone-like messenger ribonucleic acid and immunoreactive peptide in the sheep placenta. *Reprod. Fertil. Dev.*, 8(3): 449–456.
- Lam, D.D.; Przydzial, M.J.; Ridley, S.H.; Yeo, G.S.; Rochford, J.J.; O’Rahilly, S.; Heisler, L.K. (2008). Serotonin 5-HT_{2C} receptor agonist promotes hypophagia via downstream activation of melanocortin 4 receptors. *Endocrinology*, 149(3): 1323–1328.
- Lantang, A.M.; Innes, B.A.; Gan, E.H.; Pearce, S.H.; Lash, G.E. (2015). Expression of melanocortin receptors in human endometrium. *Hum. Reprod.*, 30(10): 2404–2410.
- Laporta, J.; Peters, T.L.; Merriman, K.E.; Vezina, C.M.; Hernandez, L.L. (2013). Serotonin (5-HT) affects expression of liver metabolic enzymes and mammary gland glucose transporters during the transition from pregnancy to lactation. *Plos One*, 8(2): 1–10.
- Larcher, F.; Franco, M.; Bolontrade, M.; Rodriguez-Puebla, M.; Casanova, L.; Navarro, M.; Yancopoulos, G.; Jorcano, J.L.; Conti, C.J. (2003). Modulation of the angiogenesis response through Ha-ras control, placenta growth factor, and angiopoietin expression in mouse skin carcinogenesis. *Mol. Carcinog.*, 37(2): 83–90.
- Larsson, M.; Edqvist, L.E.; Ekman, L.; Persson, S. (1979). Plasma cortisol in the horse, diurnal rhythm and effects of exogenous ACTH. *Acta Vet. Scand.*, 20(1): 16–24.
- Larsson, O.; Girnita, A.; Girnita, L. (2005). Role of insulin-like growth factor 1 receptor signalling in cancer. *Br. J. Cancer*, 92(12): 2097–2101.
- Lash, G.E.; Naruse, K.; Innes, B.A.; Robson, S.C.; Searle, R.F.; Bulmer, J.N. (2010). Secretion of angiogenic growth factors by villous cytotrophoblast and extravillous trophoblast in early human pregnancy. *Placenta*, 31(6): 545–548.
- Lash, G.E.; Naruse, K.; Robson, A.; Innes, B.A.; Searle, R.F.; Robson, S.C.; Bulmer, J.N. (2011). Interaction between uterine natural killer cells and extravillous trophoblast cells: effect on cytokine and angiogenic growth factor production. *Hum. Reprod.*, 26(9): 2289–2295.
- Lassourd, V.; Gayraud, V.; Laroute, V.; Alvinerie, M.; Benard, P.; Courtot, D.; Toutain, P.L. (1996). Cortisol disposition and production rate in horses during rest and exercise. *Am. J. Physiol.*, 271(1 Pt 2): 25–33.
- Laucht, M.; Becker, K.; Schmidt, M. (2006). Visual exploratory behavior in infancy and

- novelty seeking in adolescence: two developmentally specific phenotypes of DRD4? *J. Child Psychol. Psychiatry* 47(11): 1143–1151.
- Lauszus, F.F.; Klebe, J.G.; Bek, T.; Flyvbjerg, A. (2003). Increased serum IGF-I during pregnancy is associated with progression of diabetic retinopathy. *Diabetes*, 52(3): 852–856.
- LaVigne, E.K.; Jones, A.K.; Londoño, A.S.; Schauer, A.S.; Patterson, D.F.; Nadeau, J.A.; Reed, S.A. (2015). Muscle growth in young horses: Effects of age, cytokines, and growth factors. *J. Anim. Sci.*, 93(12): 5672–5680.
- Le Quan-Bui, K.H.; Plaisant, O.; Leboyer, M.; Gay, C.; Kamal, L.; Devynck, M.A.; Meyer, P. (1984). Reduced platelet serotonin in depression. *Psychiatry Res.*, 13(2): 129–139.
- Lebelt, D.; Zanella, A.J.; Unshelm, J. (1998). Physiological correlates associated with cribbing behaviour in horses: changes in thermal threshold, heart rate, plasma beta-endorphin and serotonin. *Equine Vet. J. Suppl.*, 27: 21–27.
- Lederman, R.P.; Lederman, E.; Work, B.Jr.; McCann, D.S. (1985). Anxiety and epinephrine in multiparous women in labor: relationship to duration of labor and fetal heart rate pattern. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 153(8): 870–877.
- Lee, W.M.; Kooistra, H.S.; Mol, J.A.; Dieleman, S.J.; Schaefers-Okkens, A.C. (2006). Ovariectomy during the luteal phase influences secretion of prolactin, growth hormone, and insulin-like growth factor-I in the bitch. *Theriogenology*, 66(2): 484–490.
- Lefranc, A.C.; Allen, W.R. (2007). Influence of breed and oestrous cycle on endometrial gland surface density in the mare. *Equine Vet. J.*, 39(6): 506–510.
- Lejeune, J.P.; Franck, T.; Gangl, M.; Schneider, N.; Michaux, C.; Deby-Dupont, G.; Serteyn, D. (2007). Plasma concentration of insulin-like growth factor I (IGF-I) in growing Ardenner horses suffering from juvenile digital degenerative osteoarthropathy. *Vet. Res. Commun.*, 31(2): 185–195.
- Lennard, S.N.; Gerstenberg, C.; Allen, W.R.; Stewart, F. (1998). Expression of epidermal growth factor and its receptor in equine placental tissues. *J. Reprod. Fertil.*, 112(1): 49–57.
- Lennard, S.N.; Stewart, F.; Allen, W.R. (1995). Transforming growth factor beta 1 expression in the endometrium of the mare during placentation. *Mol. Reprod. Dev.*, 42(2): 131–140.
- Levine, R.J.; Karumanchi, S.A. (2005). Circulating angiogenic factors in preeclampsia. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 48(2): 372–386.
- Li, L.; Braiteh, F.S.; Kuzrock, R. (2005). Liposome-encapsulated curcumin: in vitro and in vivo effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis. *Cancer*, 15: 1322–1331.
- Li, L.; Zheng, Y.; Zhu, Y.; Li, J. (2016). Serum biomarkers combined with uterine artery Doppler in prediction of preeclampsia. *Exp. Ther. Med.*, 12(4): 2515–2520.
- Li, W.; Weiyuan, Z.; Yanhui, Z. (1999). The study of maternal and fetal plasma catecholamines levels during pregnancy and delivery. *J. Perinat. Med.*, 27(3): 195–198.
- Liburt, N.R.; McKeever, K.H.; Malinowski, K.; Smarsh, D.N.; Geor, R.J. (2013). Response of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to stimulation tests before and after exercise training in old and young Standardbred mares. *J. Anim. Sci.*, 91(11): 5208–5219.
- Liebermann, J.; Schams, D.; Miyamoto, A. (1996). Effects of local growth factors on the secretory function of bovine corpus luteum during the oestrous cycle and pregnancy in vitro. *Reprod. Fertil. Dev.*, 8(6): 1003–1011.

- Liggins, G.C. (1994). The role of cortisol in preparing the fetus for birth. *Reprod. Fertil. Dev.*, 6(2): 141–150.
- Lim, C.T.; Grossman, A.; Khoo, B. (2014). Normal Physiology of ACTH and GH Release in the Hypothalamus and Anterior Pituitary in Man. En: De Groot, L.J.; Chrousos, G.; Dungan, K.; Feingold, K.R.; Grossman, A.; Hershman, J.M.; Kock, C.; Korbonits, M.; McLachlan, R.; New, M.; Purnell, J.; Rebar, R.; Singer, F.; Vinik, A. (eds.) *Endotext* [Internet]. Comprehensive free online endocrinology book, South Dartmouth (MA): MDText.com. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279116/>.
- Lima, R.; Fagundes, E.; Edwards, J.F. (2011). Sistema Reprodutivo Femenino. En: *Patologia Veterinária*. Santos, R.L., Alessi, A.C. (eds). Editorial Roca. São Paulo, Brasil, pp. 797-854.
- Lima, S.B.; Verreschi, I.T.; Ribeiro Neto, L.M. (2001). Reversed-phase liquid chromatographic method for estrogen determination in equine biological samples. *J. Chromatogr. Sci.*, 39(9): 385–387.
- Lindsay, D.; Poulson, E.; Robson, J.M. (1963). The effect of 5-hydroxytryptamine on pregnancy. *J. Endocr.*, 26: 85-96.
- Lindsay, J.R.; Nieman, L.K. (2005). The hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis in pregnancy: challenges in disease detection and treatment. *Endocrine Reviews*, 26(6): 775-799.
- Liotta, A.; Osathanondh, R.; Ryan, K.J.; Krieger, D.T. (1977). Presence of corticotropin in human placenta: Demonstration of in vitro synthesis. *Endocrinology*, 101(5): 1552–1558.
- Lippold, B.S.; Hildebrand, J.; Straub, R. (2004). Tegaserod (HTF 919) stimulates gut motility in normal horses. *Eq. Vet. J.*, 36: 622–627.
- Lipsitz, L.A.; Goldberger, A.L. (1992). Loss of “complexity” and aging. Potential applications of fractals and chaos theory to senescence. *JAMA*, 267(13): 1806–1809.
- Little, B.B. (2006). *Drugs and pregnancy*. Little B.B. (ed.). CRC Press, Taylor & Francis Group LLC, pp. 75-101.
- Liu, L.; Harding, J.E.; Evans, P.C.; Gluckman, P.D. (1994). Maternal insulin-like growth factor-I infusion alters fetoplacental carbohydrate and protein metabolism in pregnant sheep. *Endocrinology*, 135(3): 895–900.
- Livingston, J.C.; Chin, R.; Haddad, B.; McKinney, E.T.; Ahokas, R.; Sibai, B.M. (2000). Reductions of vascular endothelial growth factor and placental growth factor concentrations in severe preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 183(6): 1554–1557.
- Lonberg, U.; Damm, P.; Andersson, A.M.; Main, K.M.; Chellakooty, M.; Lauenborg, J.; Skakkebaek, N.E.; Juul, A. (2003). Increase in maternal placental growth hormone during pregnancy and disappearance during parturition in normal and growth hormone-deficient pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 188(1): 247–521.
- Lonstein, J.S.; Dominguez, J.M.; Putnam, S.K.; De Vries, G.J.; Hull, E.M. (2003). Intracellular preoptic and striatal monoamines in pregnant and lactating rats: possible role in maternal behavior. *Brain Res.*, 970(1–2): 149–158.
- López, G.; Lona, V.D.; Anguiano, B.S.; Luna, M.M.; Morato, T.C.; Romero, C.M.R. (2012). Blood levels of cortisol and glucocorticoid receptors in liver and placenta of goats at different stages of gestation. *Vet. Mex.*, 43(3): 213-223.
- López, M.G.; Villarroya, M.; Garcia, A.G. (2008). Neurotransmisión adrenérgica. Sistema nervioso simpático: fármacos simpaticomiméticos. En: Velázquez. *Farmacología básica y clínica*. Lorenzo, P.; Moreno, A.; Lizasoain, I.; Leza, J.C.; Moro, M.A.; Portolés, A. (eds.) Editorial Medica

- Panamericana, 18th ed, Buenos Aires, Argentina, pp. 145-162.
- Lorenzo, P.L.; Rebollar, P.G.; Illera, M.J.; Illera, J.C.; Illera, M.; Alvariño, J.M. (1996). Stimulatory effect of insulin-like growth factor I and epidermal growth factor on the maturation of rabbit oocytes in vitro. *J. Reprod. Fertil.*, 107(1): 109–117.
- Luan, H.; Meng, N.; Liu, P.; Feng, Q.; Lin, S.; Fu, J.; Davidson, R.; Chen, X.; Rao, W.; Chen, F.; Jiang, H.; Xu, X.; Cai, Z.; Wang, J. (2014). Pregnancy-induced metabolic phenotype variations in maternal plasma. *J. Proteome Res.*, 13(3): 1527–1536.
- Lubbers, E.R.; List, E.O.; Jara, A.; Sackman-Sala, L.; Cordoba-Chacon, J.; Gahete, M.D.; Kineman, R.D.; Boparai, R.; Bartke, A.; Kopchick, J.J.; Berryman, D.E. (2013). Adiponectin in mice with altered GH action: links to insulin sensitivity and longevity? *J. Endocrinol.*, 216(3): 363–374.
- Lukanova, A.; Kaaks, R. (2005). Endogenous hormones and ovarian cancer: epidemiology and current hypotheses. *Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev.*, 14(1): 98–107.
- Lumbers, E.R.; Bernasconi, C.; Burrell, J.H. (1998). Effects of infusions of ACTH in the chronically catheterized pregnant ewe and her fetus. *Am. J. Physiol.*, 274(2 Pt 2): 445-452.
- 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.
- Luszczynski, J.; Pieszka, M. (2011). Effect of season on plasma concentration of insulin-like growth factor-I and 1.25-dihydroxycholecalciferol in horses. *Acta Sci. Pol. Zootechnica*, 10(3): 45-54.
- Luttun, A.; Brusselmans, K.; Fukao, H.; Tjwa, M.; Ueshima, S.; Herbert, J.M.; Matsuo, O.; Collen, D.; Carmeliet, P.; Moons, L. (2002). Loss of placental growth factor protects mice against vascular permeability in pathological conditions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 295(2): 428–434.
- Lygren, T.; Hansen, S.; Langberg, H.; Fjeldborg, J.; Jacobsen, S.; Nielsen, M.O.; Schjerling, P.; Markussen, B.; Thompsen, P.D.; Berg, L.C. (2014). Serum insulin-like growth factor 1 in the aging horse. *Vet. Clin. Pathol.*, 43(4): 557–560.
- Macfarland, L.A.; Mann, D.R. (1977). The inhibitory effects of ACTH and adrenalectomy on reproductive maturation in female rats. *Biol. Reprod.*, 16(3): 306–314.
- Maes, C.; Coenegrachts, L.; Stockmans, I.; Daci, E.; Luttun, A.; Petryk, A.; Gopalakrishnan, R.; Moermans, K.; Smets, N.; Verfaillie, C.M.; Carmeliet, P.; Bouillon, R.; Carmeliet, G. (2006). Placental growth factor mediates mesenchymal cell development, cartilage turnover, and bone remodeling during fracture repair. *J. Clin. Invest.*, 116(5): 1230–1242.
- Magiakou, M.A.; Mastorakos, G.; Rabin, D.; Dubbert, B.; Gold, P.W.; Chrousos, G.P. (1996) Hypothalamic corticotropin-releasing hormone suppression during the post partum period: implications for the increase in psychiatric manifestations at this time. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81(5): 1912–1917.
- Magier, S.; van der Ven, H.H.; Diedrich, K.; Krebs, D. (1990). Significance of cumulus oophorus in in-vitro fertilization and oocyte viability and fertility. *Hum. Reprod.*, 5(7): 847–852.
- Makawiti, D.W.; Allen, W.E.; Kilpatrick, M.J. (1983). Changes in oestrone sulphate concentrations in peripheral plasma of pony mares associated with follicular growth, ovulation and early pregnancy. *J. Reprod. Fertil.*, 68(2): 481–487.
- Makieva, S.; Saunders, P.T.K.; Norman, J.E. (2014). Androgens in pregnancy: roles in parturition. *Hum. Reprod. Update*, 20(4): 542–559.

- Makris, A.; Yeung, K.R.; Lim, S.M.; Sunderland, N.; Heffernan, S.; Thompson, J.F.; Iliopoulos, J.; Killingsworth, M.C.; Yong, J.; Xu, B.; Ogle, R.F.; Thadhani, R.; Karumanchi, S.A.; Hennessy, A. (2016). Placental growth factor reduces blood pressure in a uteroplacental ischemia model of preeclampsia in nonhuman primates. *Hypertension*, 67(6): 1263-1272.
- Mal, M.E.; Friend, T.H.; Lay, D.C.; Vogelsang, S.G.; Jenkins, O.C. (1991). Physiological responses of mares to short term confinement and social isolation. *J. Equine Vet. Sci.*, 11(2): 96-102.
- Malinowski, K.; Christensen, R.A.; Hafs, H.D.; Scanes, C.G. (1996). Age and breed differences in thyroid hormones, insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF binding proteins in female horses. *J. Anim. Sci.*, 74(8): 1936-1942.
- Malinowski, K.; Christensen, R.A.; Konopka, A.; Scanes, C.G.; Hafs, H.D. (1997). Feed intake, body weight, body condition score, musculature, and immunocompetence in aged mares given equine somatotropin. *J. Animal Sci.*, 75(3): 755-760.
- Malinowski, K.; Shock, E.J.; Rochelle, P.; Kearns, C.F.; Guirnalda, P.D.; McKeever, K.H. (2006). Plasma beta-endorphin, cortisol and immune responses to acute exercise are altered by age and exercise training in horses. *Equine Vet. J. Suppl.*, 36: 267-273.
- Malmkvist, J.; Christensen, J.W. (2007). A note on the effects of a commercial tryptophan product on horse reactivity. *Appl. Animal Behav. Sci.*, 107(3): 361-366.
- Manikkam, M.; Crespi, E.J.; Doop, D.D.; Herkimer, C.; Lee, J.S.; Yu, S.; Brown, M.B.; Foster, D.L.; Padmanabhan, V. (2004). Fetal programming: prenatal testosterone excess leads to fetal growth retardation and postnatal catch-up growth in sheep. *Endocrinology*, 145(2): 790-798.
- Manjarrez-Gutiérrez, G.; González-Ramírez, M.; Boyzo-Montes de Oca, A.; Herrera-Márquez, R.; Hernández-Rodríguez, J. (2013). Serotonin and dopamine in the hypothalamus of control and malnourished mother rats during pregnancy and lactation and body composition of their offspring. *Nutr. Neurosci.*, 16(5): 225-232.
- Mann, D.R.; Evans, D.; Edoimioya, F.; Kamel, F.; Butterstein, G.M. (1985). A detailed examination of the in vivo and in vitro effects of ACTH on gonadotropin secretion in the adult rat. *Neuroendocrinology*, 40(4): 297-302.
- Mannick, J.; Vaas, P.; Rull, K.; Teesalu, P.; Rebane, T.; Laan, M. (2010). Differential expression profile of growth hormone/chorionic somatomammotropin genes in placenta of small and large for gestational age newborns. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 95(5): 2433-2442.
- Manocha, M.; Khan, W.I. (2012). Serotonin and GI disorders: An update on clinical and experimental studies. *Clin. Transl. Gastroenterol.*, 3: e13.
- Manojlović-Stojanoski, M.; Nestorović, N.; Ristić, N.; Trifunović, S.; Ajdžanović, V.; Sošić-Jurjević, B.; Milošević, V. (2012). Pregnancy reduces the responsiveness of the pituitary-adrenal axis to dexamethasone. *Acta Histochem.*, 114(6): 562-570.
- Mappouras, D.G.; Stiakakis, J.; Fragoulis, E.G. (1990). Purification and characterization of L-dopa decarboxylase from human kidney. *Mol. Cell. Biochem.*, 94(2): 147-156.
- Marc, M.; Parvizi, N.; Ellendorff, F.; Kallweit, E.; Elsaesser, F. (2000). Plasma cortisol and ACTH concentrations in the warmblood horse in response to a standardized treadmill exercise test as physiological markers for evaluation of training status. *J. Anim. Sci.*, 78(7): 1936-1946.
- Marchini, G.; Hagenäs, L.; Kocoska-Maras, L.; Berggren, V.; Hansson, L.O. (2005). Insulin-like growth factor binding protein-1

- and interleukin-6 are markers of fetal stress during parturition at term gestation. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 18(8): 777–783.
- Marcilla, M.; Satué, K.; Gardon J.C. (2014). Influencing of age on serum adrenalin and noradrenalin concentrations in healthy spanish purebred mares. En: Proceedings of Annual Congress of the European Society of Veterinary Clinical Pathology (ESVCP), Milan, Italy.
- Margioris, A.N.; Tsatsanis, C. (2011). ACTH action on the adrenal. En: De Groot, L.J.; Chrousos, G.; Dungan, K.; Feingold, K.R.; Grossman, A.; Hershman, J.M.; Kock, C.; Korbonits, M.; Mclachlan, R.; New, M.; Purnell, J.; Rebar, R.; Singer, F.; Vinik, A. (eds.). *Endotext* [Internet]. Comprehensive free online endocrinology book. South Dartmouth (MA): MDText.com. <http://europepmc.org/books/NBK279118>.
- Margolis, K.G.; Stevanovic, K.D.; Yang, Q.M.; Li, Z.; Mazo, R.; Gershon, M.D. (2011). An Inhibitor of Tryptophan Hydroxylase Successfully Ameliorates TNBS-Induced Colitis. *Gastroenterology*, 140(5): S478.
- Markham, K.E.; Kaye, P.L. (2003). Growth hormone, insulin-like growth factor I and cell proliferation in the mouse blastocyst. *Reproduction*, 125(3): 327–336.
- Marlin, D.J. (2007). The effect of thermal environmental conditions on the health and performance of horses. Retrieved from [http://www.davidmarlin.co.uk/PDFs/Environmental Conditions MARLIN v1.pdf](http://www.davidmarlin.co.uk/PDFs/Environmental%20Conditions%20MARLIN%20v1.pdf).
- Marshall, A.M.; Nommsen-Rivers, L.A.; Hernandez, L.L.; Dewey, K.G.; Chantry, C.J.; Gregerson, K.A.; Horseman, N.D. (2010). Serotonin transport and metabolism in the mammary gland modulates secretory activation and involution. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 95(2): 837–846.
- Martin, P.A.; Crump, M.H. (2003). The adrenal gland. En: McDonald's veterinary endocrinology and reproduction. Pineda, M.H.; Dooley, M.P. (eds). 5th ed. Ames, IA. Iowa State Press, pp. 165-200.
- Martínez. R.; Godoy, A.; Naretto, E.; White, A. (1988) Neuroendocrine changes produced by competition stress on the Thoroughbred race horse. *Comp. Biochem. Physiol.*, 91(3): 599-602.
- Martos, N.; Ayala, I. (2003). El estrés en los équidos. *An. Vet.*, 19: 121-127.
- Mastorakos, G.; Ilias, I. (2003). Maternal and fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axes during pregnancy and postpartum. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 997: 136–149.
- Matsuda, M.; Imaoka, T.; Vomachka, A.J.; Gudelsky, G.A.; Hou, Z.; Mistry, M.; Bailey, J.P.; Nieport, K.M.; Walther, D.J.; Bader, M.; Horseman, N. D. (2004). Serotonin regulates mammary gland development via an autocrine-paracrine loop. *Dev. Cell*, 6(2): 193–203.
- Mayama, R.; Izawa, T.; Sakai, K.; Suciú, N.; Iwashita, M. (2013). Improvement of insulin sensitivity promotes extravillous trophoblast cell migration stimulated by insulin-like growth factor-I. *Endocr. J.*, 60(3): 359-368.
- Mayhew, I.G.; Ferguson, H.O. (1987). Clinical, clinicopathologic, and epidemiologic features of anhidrosis in central Florida Thoroughbred horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 1(3): 136-141.
- Maynard, S.E.; Min, J.Y.; Merchan, J.; Lim, K.H.; Li, J.; Mondal, S.; Libermann, T.A.; Morgan, J.P.; Sellke, F.W.; Stillman, I.E.; Epstein, F.H.; Sukhatme, V.P.; Karumanchi, S.A. (2003). Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J. Clin. Invest.*, 111(5): 649–658.
- Mazziotti, G.; Giustina, A. (2013). Glucocorticoids and the regulation of growth hormone secretion. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 9(5): 265–276.

- Mc Cue, P.M. (2014). Endocrine evaluation pregnancy. En: *Equine Reproductive procedures*. Dascanio, J.; McCue, P. (eds.). 1^a ed., pp. 235–239.
- McBride, S.D.; Hemmings, A. (2005). Altered mesoaccumbens and nigro-striatal dopamine physiology is associated with stereotypy development in a non-rodent species. *Behav. Brain Res.*, 159(1): 113–118.
- McCue, P.M. (1998). Review of ovarian abnormalities in the mare. En: *Proceedings of the 44th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*, Baltimore, Maryland, 44: 125-133.
- McCue, P.M.; Buchanan, B.R.; Farquhar, V.J.; Squires, E.L.; Cross, D. L. (1999). Efficacy of Domperidone on induction of ovulation in anestrus and transitional mares. En: *Proceedings of the 45th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*, Albuquerque, New Mexico, 45: 217-218.
- McDermott, J.L. (1993). Effects of estrogen upon dopamine release from the corpus striatum of young and aged female rats. *Brain Res.*, 606(1): 118–125.
- McDonnell, S. (1998). Pharmacological aids to behavior modification in horses. *Equine Vet. J. Suppl.* 27: 50.
- McDonnell, S. (2000). Stallion sexual behavior. En: *Equine breeding management and artificial insemination*. Samper, J.C. (ed.) Philadelphia: WB Saunders, pp. 53-61.
- McFarlane, D. (2006). Role of the equine hypothalamic-pituitary pars intermedia axis in health and disease. En: *Proceedings of the 52th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*, San Antonio, Texas, USA, 52: 55-59.
- McFarlane, D. (2007). Advantages and limitations of the equine disease, pituitary pars intermedia dysfunction as a model of spontaneous dopaminergic neurodegenerative disease. *Ageing Res. Rev.*, 6(1): 54–63.
- McFarlane, D.; Beech, J.; Cribb, A. (2006). Alpha-melanocyte stimulating hormone release in response to thyrotropin releasing hormone in healthy horses, horses with pituitary pars intermedia dysfunction and equine pars intermedia explants. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 30(4): 276-288.
- McFarlane, D.; Donaldson, M.T.; Saleh, T.M.; Cribb, A.E. (2003). The role of dopaminergic neurodegeneration in equine pituitary pars intermedia dysfunction (Equine Cushing's Disease). En: *Proceedings of the 49th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*, New Orleans, Louisiana, 52: 55-59.
- McFarlane, D.; Dybdal, N.; Donaldson, M.T.; Miller, L.; Cribb, A.E. (2005). Nitration and increased α -synuclein expression associated with dopaminergic neurodegeneration in equine pituitary pars intermedia dysfunction. *J. Neuroendocrinol.*, 17(2): 73-80.
- McFarlane, D.; Holbrook, T.C. (2008). Cytokine dysregulation in aged horses and horses with pituitary pars intermedia dysfunction. *J. Vet. Intern. Med.*, 22(2): 436–442.
- McFarlane, D.; Paradis, M.R.; Zimmel, D.; Sykes, B.; Brorsen, B.W.; Sanchez, A.; Vainio, K. (2011). The effect of geographic location, breed, and pituitary dysfunction on seasonal adrenocorticotropin and α -melanocyte-stimulating hormone plasma concentrations in horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 25(4): 872–881.
- 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.

- McGorum, B.C.; Pirie, R.S.; Eaton, S.L.; Keen, J.A.; Cumyn, E.M.; Arnott, D.M.; Chen, W.; Lamont, D.J.; Graham, L.C.; Llaveró, H.M.; Pemberton, A.; Wishart, T.M. (2015). Proteomic profiling of cranial (superior) cervical ganglia reveals beta-amyloid and ubiquitin proteasome system perturbations in an equine multiple system neuropathy. *Mol. Cell. Proteomics*, 14(11): 3072–3086.
- McGregor, J.A.; Leff, M.; Orleans, M.; Baron, A. (1992). Fetal gender differences in preterm birth: findings in a North American cohort. *Am. J. Perinatol.*, 9(1): 43–48.
- McIntyre, H.D.; Serek, R.; Crane, D.I.; Veveris-Lowe, T.; Parry, A.; Johnson, S.; Leung, K.C.; Ho, K.K.Y.; Bougoussa, M.; Hennen, G.; Igout, A.; Chan, F.; Cowley, D.; Cotterill, A.; Barnard, R. (2000). Placental Growth Hormone (GH), GH-Binding Protein, and Insulin-Like Growth Factor axis in normal, growth-retarded, and diabetic pregnancies: correlations with fetal Ggrowth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 85(3): 1143–1150.
- McKeever, K.H.; Hinchcliff, K.W.; Schmall, L.M.; Muir, W.W. (1991). Renal tubular function in horses during submaximal exercise. *Am. J. Physiol.*, 261: 553–560.
- McKnight, R.A.; Yost, C.C.; Yu, X.; Wiedmeier, J.E.; Callaway, C.W.; Brown, A.S.; Lane, R.H.; Fung, C.M. (2015). Intrauterine growth restriction perturbs nucleosome depletion at a growth hormone-responsive element in the mouse IGF-1 gene. *Physiol. Genomics*, 47(12): 634–643.
- McMahon, D.G.; Iuvone, P.M.; Tosini, G. (2014). Circadian organization of the mammalian retina: from gene regulation to physiology and diseases. *Prog. Retin. Eye Res.*, 39: 58–76.
- Meeusen, R.; Watson, P. (2007). Amino acids and the brain: do they play a role in "central fatigue"? *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.*, 17 Suppl: S37–S46.
- Meiser, J.; Weindl, D.; Hiller, K. (2013). Complexity of dopamine metabolism. *Cell. Commun. Signal*, 11(1): 34.
- Melacon, M.O.; Lorrain, D.; Dionne, I.J. (2014). Changes in markers of brain serotonin activity in response to chronic exercise in senior men. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, 39(11): 1250–1256.
- Melrose, P.; Walker, R.; Douglas, R. (1990). Dopamine in the cerebrospinal fluid of prepubertal and adult horses. *Brain Behav. Evol.*, 35(2): 98–106.
- Menzies-Gow, N.J.; Bailey, S.R.; Katz, L. M.; Marr, C.M.; Elliott, J. (2004). Endotoxin-induced digital vasoconstriction in horses: associated changes in plasma concentrations of vasoconstrictor mediators. *Equine Vet. J.*, 36(3): 273–278.
- Meral, Y.; Cakiroğlu, D.; Sancak, A.A.; Cýftcý, G.; Karabacak, A. (2007). Relationships between serum serotonin and serum lipid levels, and aggression in horses. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*, 114(1): 30–32.
- Mercadante, V.R.; Fontes, P.L.; Ciriaco, F.M.; Henry, D.D.; Moriel, P.; Ealy, A.D.; Johnson, S.E.; DiLorenzo, N.; Lamb, G.C. (2016). Effects of recombinant bovine somatotropin administration at breeding on cow, conceptus, and subsequent offspring performance of beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 94(5): 2128–2138.
- Merl, S.; Scherzer, S.; Palme, R.; Möstl, E. (2000). Pain causes increased concentrations of glucocorticoid metabolites in horse feces. *J. Equine Sci.*, 20(9): 586–590.
- Mesbah, S.; Brudieux, R. (1982). Diurnal variation of plasma concentrations of cortisol, aldosterone and electrolytes in the ram. *Horm. Metab. Res.*, 14(6): 320–323.
- Messer, N.T.; Johnson, P.J. (2007). Evidence-based literature pertaining to thyroid dysfunction and Cushing's syndrome in the horse. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 23(2): 329–364.

- Miller, M.A.; Pardo, I.D.; Jackson, L.P.; Moore, G.E.; Sojka, J.E. (2008). Correlation of pituitary histomorphometry with adrenocorticotrophic hormone response to domperidone administration in the diagnosis of equine pituitary pars intermedia dysfunction. *Vet. Pathol.*, 45(1): 26-38.
- Miller, W.L.; Auchus, R.J. (2011). The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocr. Rev.*, 32(1): 81–151.
- Millington, W.R.; Dybdal, N.O.; Dawson, R.; Manzini, C.; Mueller, G.P. (1988). Equine Cushing's disease: differential regulation of beta-endorphin processing in tumors of the intermediate pituitary. *Endocrinology*, 123(3): 1598–1604.
- Mills, P.C.; Kramer H.; Auer, D.E. (1997). Stress response to chronic inflammation in the horse. *Equine Vet. J.*, 29(6): 483-486.
- Min, S.H.; Mackenzie, D.D.; McCutcheon, S.N.; Breier, B.H.; Gluckman, P.D. (1997). Comparative effects of recombinant ovine placental lactogen and bovine Growth Hormone on galactopoiesis in ewes. *J. Dairy Sci.*, 80(4): 640–645.
- Mircean, M.; Giurgiu, G.; Mircean, V.; Zinveliu, E. (2007). Serum cortisol variation of sport horses in relation with the level of training and effort intensity. *Bulletin USAMV-CN*, 64: 488–492.
- Mirlesse, V.; Franckene, F.; Alsat, E.; Poncelet, M.; Hennen, G.; Evain-Brion, D. (1993). Placental Growth Hormone levels in normal pregnancy and in pregnancies with intrauterine growth retardation. *Pediatr. Res.*, 34(4): 439–442.
- Missale, C.; Nash, S.R.; Robinson, S.W.; Jaber, M.; Caron, M.G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol. Rev.*, 78(1): 189–225.
- Mittal, P.; Espinoza, J.; Hassan, S.; Kusanovic, J.P.; Edwin, S.S.; Nien, J.K.; Gotsch, F.; Than, N.G.; Erez, O.; Mazaki-Tovi, S.; Romero, R. (2007). Placental growth hormone is increased in the maternal and fetal serum of patients with preeclampsia. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.*, 20(9): 651–659.
- Moe, A.J. (1995). Placental amino acid transport. *Am. J. Physiol.*, 268 (6 Pt 1): C1321-1331.
- Moeller, B.C.; Brown, S.E.; Pierce, S.W.; Van Balen, C.A.; Stanley, S.D. (2009). Endogenous steroid profiling of young Thoroughbred horses in athletic training. En: *Proceedings of the 55th annual convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*, Las Vegas, Nevada, pp.317.
- Mohammed, K.A.; Nasreen, N.; Tepper, R.S.; Antony, V.B. (2007). Cyclic stretch induces PIGF expression in bronchial airway epithelial cells via nitric oxide release. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 292(2): 559-566.
- Moiseiwitsch, J.R.D. (2000). The role of serotonin and neurotransmitters during craniofacial development. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 11(2): 230–239.
- Møller, C.L.; Raun, K.; Jacobsen, M.L.; Pedersen, T.A.; Holst, B.; Conde-Frieboes, K.W.; Wulff, B.S. (2011). Characterization of murine melanocortin receptors mediating adipocyte lipolysis and examination of signalling pathways involved. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 341(1-2): 9-17.
- Møller, N.; Jørgensen, J.O. (2009). Effects of growth hormone on glucose, lipid, and protein metabolism in human subjects. *Endocr. Rev.*, 30(2): 152-177.
- Møller, U.K.; Streym, S.; Mosekilde, L.; Heickendorff, L.; Flyvbjerg, A.; Frystkyk, J.; Jensen, L.T.; Rejnmark, L. (2013). Changes in calcitropic hormones, bone markers and insulin-like growth factor I (IGF-I) during pregnancy and postpartum: a controlled cohort study. *Osteoporos., Int.*, 24(4): 1307-1320.

- Montesinos, P. (2012). 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. Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria, Universidad CEU-Cardenal Herrera, Moncada, Valencia.
- Moore, J.N.; Ganer, H.E.; Coffman, J.R. (1981). Haematological changes during development of acute laminitis hypertension. *Equine Vet. J.*, 4: 240-242.
- Moore, M.C.; DiCostanzo, C.A.; Dardevet, D.; Lautz, M.; Farmer, B.; Neal, D.W.; Cherrington, A.D. (2004). Portal infusion of a selective serotonin reuptake inhibitor enhances hepatic glucose disposal in conscious dogs. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 287(6): E1057– 1063.
- Moretti, C.; Fabbri, A.; Gnessi, L.; Cappa, M.; Calzolari, A.; Fraioli, F.; Grossman, A.; Besser, G. M. (1983). Naloxone inhibits exercise-induced release of PRL and GH in athletes. *Clin. Endocrinol.*, 18(2): 135–138.
- Morgan C.A.; Southwick, S.; Hazlett, G.; Rasmusson, A.; Hoyt, G.; Zimolo, Z.; Charney, D. (2004). Relationships among plasma dehydroepiandrosterone sulfate and cortisol levels, symptoms of dissociation, and objective performance in humans exposed to acute stress. *Arch. Gen. Psychiatry*, 61(8): 819-825.
- Mori, H.; Arakawa, S.; Ohkawa, T.; Ohkawa, R.; Takada, S.; Morita, T.; Okinaga, S. (1994). The involvement of dopamine in the regulation of steroidogenesis in rat ovarian cells. *Horm. Res.*, 41(Suppl 1): 36–40.
- Möstl, E. (1994). The horse feto-placental unit. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 102(3): 166-168.
- Muck-Seler, D.; Pivac, N.; Mustapic, M.; Crncevic, Z.; Jakovljevic, M.; Sagud, M. (2004). Platelet serotonin and plasma prolactin and cortisol in healthy, depressed and schizophrenic women. *Psychiatry Res.*, 127(3): 217–226.
- Mukherjee, K.; Swyer, G.I. (1972). Plasma cortisol and adrenocorticotrophic hormone in normal men and non-pregnant women, normal pregnant women and women with pre-eclampsia. *J. Obstet. Gynaecol. Br. Commonw.*, 79(6): 504–512.
- Mukhopadhyaya I.; Hansen R; El-Omar E.M.; Hold, G.L. (2012). IBD-what role do Proteobacteria play? *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 9(4): 219–230.
- Mukoyama, H.; Endo, M.; Kuroda, K.; Furuta, H.; Yoshida, T.; Yoshimura, I. (2009). Evaluation as therapeutics horse of Kiso pony by behavioral related gene (DRD4 gene) polymorphism. *DNA Polymorph.*, 17: 36–39.
- Müller, E.E.; Cella, S.G.; De Gennaro Colonna, V.; Parenti, M; Cocchi, D.; Locatelli, V. (1993). Aspects of the neuroendocrine control of growth hormone secretion in ageing mammals. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 46: 99-114.
- Munemura, M.; Cote, T.E.; Tsuruta, K.; Eskay, R.L.; Kebabian, J.W. (1980). The dopamine receptor in the intermediate lobe of the rat pituitary gland: pharmacological characterization. *Endocrinology*, 107(6):1676–1683.
- Muñoz A.; Riber, C.; Trigo, P.; Castejon, F.M. (2010b). Pathological changes and clinical use of the measurement of serum/plasma concentrations of insulin-like growth factor type 1 (IGF-1) in horses, dogs and cats. *Hum. Vet. Med.*, 2: 39–54.
- Muñoz A.; Riber, C.; Trigo, P.; Castejon, F.M. (2010a). Biological actions and determinant factors of the circulating concentrations of insulin-like growth factor type 1, IGF-1 in the horse. *RedVet*, 11: 1–17.
- Muñoz, A.; Trigo, P.; Riber, C.; Malonda, V.; Castejon, F. (2011). A study of serum insulin-like growth factor type 1 (IGF-1) concentrations in resting untrained

- Andalusian horses: influence of age and gender. *Vet. Med.-Czech.*, 56(5): 231-242.
- Murray, M.J.; Schusser, G.F.; Pipers, F.S.; Gross, S.J. (1996). Factors associated with gastric lesions in thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J.*, 28(5): 368-374.
- Musumeci, G.; Loreto, C.; Trovato, F.M.; Giunta, S.; Imbesi, R.; Castrogiovanni, P. (2014). Serotonin (5HT) expression in rat pups treated with high-tryptophan diet during fetal and early postnatal development. *Acta Histochem.*, 116(2): 335-343.
- Naber, M.E.; Shemesh, M.; Shore, L.S.; Rios C. (1999). Estrogen and progesterone levels in pure bred Arabian horses during pregnancy. *Israel J. Vet. Med.*, 54(2): 33-35.
- Nabi, R.; Serajee, F.J.; Chugani, D.C.; Zhong, H.; Huq, A.H. (2004). Association of tryptophan 2,3 dioxygenase gene polymorphism with autism. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.*, 125B(1): 63-68.
- Naesh, O.; Hindberg, I.; Bruun, A.B. (2001). Decreased reuptake of serotonin in human platelets after surgery. *Clin. Physiol.*, 21(1): 39-43.
- Nagata, S.; Takeda, 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.
- Nagel, C.; Aurich, J.; Aurich, C. (2011). Heart rate and heart rate variability in the pregnant mare and its foetus. *Reprod. Domest. Anim.*, 46(6): 990-993.
- Nagel, C.; Erber, R.; Bergmaier, C.; Wulf, M.; Aurich, J.; Möstl, E.; Aurich, C. (2012). Cortisol and progesterone release, heart rate and heart rate variability in the pregnant and postpartum mare, fetus and newborn foal. *Theriogenology*, 78(4): 759-767.
- Nagel, C.; Erber, R.; Ille, N.; von Lewinski, M.; Aurich, J.; Möstl, E.; Aurich, C. (2014). Parturition in horses is dominated by parasympathetic activity of the autonomous nervous system. *Theriogenology*, 82(1): 160-168.
- Nagy, P.; Bruneau, B.; Duchamp, G.; Daels, P.F.; Guillaume, D. (1999). Dopaminergic control of seasonal reproduction in mares. En: *Proceedings of the 3rd Meeting of the European Society for Domestic Animal Reproduction*. Blackwell Wissenschafts-Verlag, 11.
- Nagy, P.; Guillaume, D.; Daels, P. (2000). Seasonality in mares. *Anim. Reprod. Sci.*, 60: 245-262.
- 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.
- Nakamura, K.; Sato, T.; Ohashi, A.; Tsurui, H.; Hasegawa, H. (2008). Role of a serotonin precursor in development of gut microvilli. *Am. J. Pathol.*, 172(2): 333-344.
- Nakanishi, H.; McLean, J.; Wood, C.; Burnstock, G. (1969). The role of sympathetic nerves in control of the nonpregnant and pregnant human uterus. *J. Reprod. Med.*, 11:20-33.
- Narukawa, S.; Kanzaki, H.; Inoue, T.; Imai, K.; Higuchi, T.; Hatayama, H.; Kariya, M.; Mori, T. (1994). Androgens induce prolactin production by human endometrial stromal cells in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 78(1): 165-168.
- Nathanielsz, P.W.; Rosedale, 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.
- Natrajan, P.G.; McGarrigle, H.H.; Lawrence, D.M.; Lachelin, G.C. (1982). Plasma noradrenaline and adrenaline levels in normal pregnancy and in pregnancy-induced hypertension. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 89(12): 1041-1045.

- Nawathe, A.R.; Christian, M.; Kim, S.H.; Johnson, M.; Savvidou, M.D.; Terzidou, V. (2016). Insulin-like growth factor axis in pregnancies affected by fetal growth disorders. *Clin. Epigenetics*, 8(1): 11.
- Neto, A.C.; Ball, B.A.; Browne, P.; Conley, A.J. (2010). Cellular localization of androgen synthesis in equine granulosa-theca cell tumors: immunohistochemical expression of 17 α -hydroxylase/17,20-lyase cytochrome P450. *Theriogenology*, 74(3): 393-401.
- Neumann, I.D.; Johnstone, H.A.; Hatzinger, M.; Liebsch, G.; Shipston, M.; Russell, J.A.; Landgraf, R.; Douglas, A.J. (1998). Attenuated neuroendocrine responses to emotional and physical stressors in pregnant rats involve adeno-hypophysial changes. *J. Physiol.*, 508(Pt 1): 289–300.
- Neuschaefer, A.; Bracher, V.; Allen, W.R. (1991). Prolactin secretion in lactating mares before and after treatment with bromocriptine. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 44: 551–559.
- Newsholme, E.A.; Blomstrand, E. (2006). Branched-chain amino acids and central fatigue. *J. Nutr.*, 136: 274S–276S.
- Nielsen, J.H.; Galsgaard, E.D.; Møldrup, A.; Friedrichsen, B.N.; Billestrup, N.; Hansen, J.A. Lee, Y.C.; Carlsson, C. (2001). Regulation of beta-cell mass by hormones and growth factors. *Diabetes*, 50 (Suppl. 1): S25-S29.
- Nieto, J.E.; Maher, O.; Stanley, S.D.; Larson, R.; Snyder, J.R. (2013). In vivo and in vitro evaluation of the effects of domperidone on the gastrointestinal tract of healthy horses. *Am. J. Vet. Res.*, 74(8): 1103–1110.
- Niinisto, K.E.; Korolainen, R.V.; Raekallio, M.R.; Mykkänen, A.K.; Koho, N.M.; Ruohoniemi, M.O.; Leppäluoto, J.; Pösö, A.R. (2010). Plasma levels of heat shock protein 72 (HSP72) and beta-endorphin as indicators of stress, pain and prognosis in horses with colic. *Vet. J.*, 184(1): 100-104.
- Nilsson-Ehle, H.; Bengtsson, B.A.; Lindstedt, G.; Mellstrom, D. (2005). Insulin-like growth factor-1 is a predictor of blood haemoglobin concentration in 70-yr-old subjects. *Eur. J. Haematol.*, 74(2): 111–116.
- Nindle, B.C.; Hymer, W.C.; Deaver, D.R.; Kraemer, W.J. (2001). Growth hormone pulsatility profile characteristics following acute heavy resistance exercise. *J. Appl. Physiol.*, 91(1): 163-172.
- Noble, G.K.; Brockwell, Y.M.; Munn, K.J.; Harris, P.A.; Davidson, H.P.; Li, X.; Zhang, D.; Sillence, M.N. (2008). Effects of a commercial dose of L-tryptophan on plasma tryptophan concentrations and behaviour in horses. *Equine Vet. J.*, 40(1): 51–56.
- Noble, G.K.; Houghton, E.; Roberts, C.J.; Faustino-Kemp, J.; De Kock, S.S.; Swanepoel, B.C.; Sillence, M.N. (2007). Effect of exercise, training, circadian rhythm, age, and sex on insulin-like growth factor-1 in the horse. *J. Anim. Sci.*, 85(1): 163–171.
- Noble, G.K.; Li, X.; Zhang, D.; Sillence, M.N. (2016). Randomised clinical trial on the effect of a single oral administration of L-tryptophan, at three dose rates, on reaction speed, plasma concentration and haemolysis in horses. *Vet. J.*, 213: 84-86.
- Noble, G.K.; Sillence, M.N. (2013). Diurnal rhythm and effects of feeding, exercise and recombinant equine growth hormone on serum insulin concentrations in the horse. *Equine Vet. J.*, 45(6): 745–750.
- Nogués, N.; Del Río, J.A.; Pérez-Riba, M.; Soriano, E.; Flavell, R.A.; Boronat, A. (1997). Placenta-specific expression of the rat growth hormone-releasing hormone gene promoter in transgenic mice. *Endocrinology*, 138(8): 3222–3227.
- Nolten, W.E.; Lindheimer, M.D.; Rueckert, P.A.; Oparil, S.; Ehrlich, E.N. (1980). Diurnal patterns and regulation of cortisol secretion in pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51(3): 466-472.

- Norman, D.; Isidori, A.M.; Frajese, V.; Caprio, M.; Chew, S.L.; Grossman, A.B.; Clark, A.J.; Michael, Besser, G.; Fabbri, A. (2003). ACTH and alpha-MSH inhibit leptin expression and secretion in 3T3-L1 adipocytes: model for a central-peripheral melanocortin-leptin pathway. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 200(1–2): 99–109.
- Norrelund, H.; Hansen, T.K.; Orskov, H.; Hosoda, H.; Kojima, M.; Kangawa, K.; Weeke, J.; Moller, N.; Christiansen, J.S.; Jorgensen, J.O. (2002). Ghrelin immunoreactivity in human plasma is suppressed by somatostatin. *Clin. Endocrinol.*, 57(4): 539–546.
- Notelovitz, M. (2002). Androgen effects on bone and muscle. *Fertil. Steril.*, 77(4): 34–41.
- O'Connor, S.J.; Gardner, D.S.; Ousey, J.C.; Holdstock, N.; Rossdale, P., Edwards, C. M. Fowden, A.L.; Giussani, D.A. (2005). Development of baroreflex and endocrine responses to hypotensive stress in newborn foals and lambs. *Pflügers Arch.*, 450(5): 298–306.
- Oberlander, T.F.; Grunau, R.; Mayes, L.; Riggs, W.; Rurak, D.; Papsdorf, M.; Misri, S.; Weinberg, J. (2008). Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis function in 3-month old infants with prenatal selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) antidepressant exposure. *Early Hum. Dev.*, 84(10): 689–697.
- Ochedalski, T.; Lachowicz, A. (2004). Maternal and fetal hypothalamo-pituitary-adrenal axis different response depends upon the mode of parturition. *Neuro Endocrinol. Lett.*, 25(4): 278–282.
- Ochedalski, T.; Zylinska, K.; Laudanski, T.; Lachowicz, A. (2001). Corticotropin releasing hormone and ACTH levels in maternal and fetal blood during spontaneous and oxytocin-induced labour. *Eur. J. Endocrinol.*, 144(2): 117–121.
- Odibo, A.O.; Patel, K.R.; Spitalnik, A.; Odibo, L.; Huettner, P. (2014). Placental pathology, first-trimester biomarkers and adverse pregnancy outcomes. *J. Perinatol.*, 34(3): 186–191.
- Ohara-Imaizumi, M.; Kim, H.; Yoshida, M.; Fujiwara, T.; Aoyagi, K.; Toyofuku, Y.; Nakamichi, Y.; Nishiwaki, C.; Okamura, T.; Uchida, T.; Fujitani, Y.; Akagawa, K.; Kakei, M.; Watada, H.; German, M.S.; Nagamatsu, S. (2013). Serotonin regulates glucose-stimulated insulin secretion from pancreatic β cells during pregnancy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110(48): 19420–19425.
- Okatani, Y.; Tamura, S.; Sagara, Y. (1990). Serotonin metabolism in normal pregnant women and fetus. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*, 42(11): 1503–1509.
- Oliveira, C.R.; Salvatori, R.; Nóbrega, L.M.; Carvalho, E.O.; Menezes, M.; Farias, C.T.; Britto, A.V.; Pereira, R.M.; Aguiar-Oliveira, M.H. (2008). Sizes of abdominal organs in adults with severe short stature due to severe, untreated, congenital GH deficiency caused by a homozygous mutation in the GHRH receptor gene. *Clin. Endocrinol.*, 69(1): 153–158.
- Oliveira, C.R.; Salvatori, R.; Nóbrega, L.M.; Carvalho, E.O.; Menezes, M.; Farias, C.T.; Britto, A.V.; Pereira, R.M.; Aguiar-Oliveira, M.H. (2008). Sizes of abdominal organs in adults with severe short stature due to severe, untreated, congenital GH deficiency caused by a homozygous mutation in the GHRH receptor gene. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, 69(1): 153–158.
- Oliveira, J.L.; Aguiar-Oliveira, M.H.; D'Oliveira, A. Jr.; Pereira, R.M.; Oliveira, C.R.; Farias, C.T.; Barreto-Filho, J.A.; Anjos-Andrade, F.D.; Marques-Santos, C.; Nascimento-Junior, A.C.; Alves, E.O.; Oliveira, F.T.; Campos, V.C.; Ximenes, R.; Blackford, A.; Parmigiani, G.; Salvatori, R. (2007). Congenital growth hormone (GH) deficiency and atherosclerosis: effects of GH replacement in GH-naïve adults. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 92(12): 4664–4670.

- Orth, D.N.; Holscher, M.A.; Wilson, M.G.; Nicholson, W.E.; Plue, R.E.; Mount, C.D. (1982). Equine Cushing's disease: plasma immunoreactive proopiomelanocortin peptide and cortisol levels basally and in response to diagnostic tests. *Endocrinology*, 110(4): 1430–1441.
- Ortiz, J.; Artigas, F.; Gelpí, E. (1988). Serotonergic status in human blood. *Life Sci.*, 43(12): 983–990.
- O'shaughnessy, R.W.; O'toole, R.; Tuttle, S.; Zuspan, P.F. (1983). Uterine catecholamines in normal and hypertensive human pregnancy. *Clin. Exp. Hypertens.*, 2(3): 447–457.
- Otamiri, G.; Berg, G.; Ledin, T.; Leijon, I.; Lagercrantz, H. (1991). Delayed neurological adaptation in infants delivered by elective cesarean section and the relation to catecholamine levels. *Early Hum. Dev.*, 26(1): 51–60.
- Ousey, J.C. (2004). Peripartal endocrinology in the mare and foetus. *Reprod. Domest. Anim.*, 39(4): 222–231.
- Ousey, J.C.; Houghton, E.; Grainger, L.; Rossdale, P.D.; Fowden, A.L. (2005). Progestagen profiles during the last trimester of gestation in Thoroughbred mares with normal or compromised pregnancies. *Theriogenology*, 63(7): 1844–1856.
- Ousey, J.C.; Rossdale, P.D.; Dudan, F.E.; Fowden, A.L. (1998). The effects of intrafetal ACTH administration on the outcome of pregnancy in the mare. *Reprod. Fertil. Dev.*, 10(4): 359–367.
- Ousey, J.C.; Rossdale, P.D.; Palmer, L.; Grainger, L.; Houghton, E. (2000). Effects of maternally administered depot ACTH (1-24) on fetal maturation and the timing of parturition in the mare. *Equine Vet. J.*, 32(6): 489–496.
- Ousey, J.C.; Forhead, A.J.; Rossdale, P.D.; Grainger, L.; Houghton, E.; Fowden, A.L. (2003). Ontogeny of uteroplacental progestagen production in pregnant mares during the second half of gestation. *Biol. Reprod.*, 69(2): 540–548.
- Ozawa, A.; Inokuma, H.; Johke, T. (1995). The relationship between plasma insulin-like growth factor-I (IGF-I) level and body weight in the horse. *J. Vet. Med. Sci.*, 57(6): 1105–1107.
- Pääkkönen, T.; Leppäluoto, J. (2002). Cold exposure and hormonal secretion: a review. *Int. J. Circumpolar Health*, 61(3): 265–276.
- Paladini, C.A.; Roeper, J. (2014). Generating bursts (and pauses) in the dopamine midbrain neurons. *Neuroscience*, 282: 109–121.
- Palomares, A.R.; Lendínez-Ramírez, A.M.; Pérez-Nevot, B.; Cortés-Rodríguez, M.; Martínez, F.; Garrido, N.; Ruiz-Galdón, M.; Reyes-Engel, A. (2013). Genetic polymorphisms of serotonin transporter and receptor 1A could influence success during embryo implantation and maintenance of pregnancy. *Fertil. Steril.*, 99(7): 2009–2016.
- Pantaleon, M.; Whiteside, E.J.; Harvey, M.B.; Barnard, R.T.; Waters, M.J.; Kaye, P.L. (1997). Functional growth hormone (GH) receptors and GH are expressed by preimplantation mouse embryos: a role for GH in early embryogenesis? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94(10): 5125–5130.
- Panzani, D.; Zicchino, I.; Taras, A.; Marmorini, P.; Crisci, A.; Rota, A.; Camillo, F. (2011). Clinical use of dopamine antagonist sulpiride to advance first ovulation in transitional mares. *Theriogenology*, 75(1): 138–143.
- Papadimas, G.K.; Tzirogiannis, K.N.; Panoutsopoulos, G.I.; Demonakou, M.D.; Skaltsas, S.D.; Hereti, R.I.; Papadopoulou-Daifoti, Z.; Mykoniatis, M. G. (2006). Effect of serotonin receptor 2 blockage on liver regeneration after partial hepatectomy in the rat liver. *Liver Int.*, 26(3): 352–361.
- Papadopoulou, E.; Sifakis, S.; Giahnakis, E.; Fragouli, Y.; Karkavitsas, N.; Koumantakis,

- E.; Kalmanti, M. (2006). Increased human placental growth hormone at midtrimester pregnancies may be an index of intrauterine growth retardation related to preeclampsia. *Growth Horm. IGF Res.*, 16(5–6): 290–296.
- Pardal, R.; Ortega-Sáenz, P.; Durán, R.; López-Barneo, J. (2007). Glia-like stem cells sustain physiologic neurogenesis in the adult mammalian carotid body. *Cell*, 131(2): 364–377.
- Paredes, H.P.; Jiménez, E.C.; Hernández, V.A. (2013). Corpus luteum diameter and serum progesterone level, during the estrous cycle in colombian criollo mares. *Rev. MVZ Córdoba* 18(3): 3829–3835.
- Paredes, P.; Jiménez, C.; Hernández, A. (2012). Progesterona plasmática y algunas características uterinas y embrionarias durante la gestación temprana en yeguas criollas colombianas. *Rev. Med. Vet.* 24: 123–136.
- Parvez, S.; Parvez, H.; Griposis, D. (1973). The plasmatic release and adrenal storage of adrenaline and noradrenaline during third part of pregnancy, parturition and post-partum in the rat. *Pharmacol. Res. Commun.*, 5(3): 265–276.
- Pashen, R.L. (1984) Maternal and foetal endocrinology during late pregnancy and parturition in the mare. *Equine Vet. J.*, 16(4): 233–238.
- Pashen, R.L.; Allen, W.R. (1979). The role of the fetal gonads and placenta in steroid production, maintenance of pregnancy and parturition in the mare. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 27: 499–509.
- Pashen, R.L.; Sheldrick, E.L.; Allen, W.R.; Flint, A.P. (1982). Dehydroepiandrosterone synthesis by the fetal foal and its importance as an oestrogen precursor. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 32: 389–397.
- Pass, M.A.; Pollitt, S.; Pollitt, C.C. (1998). Decreased glucose metabolism causes separation of hoof lamellae in vitro: a trigger for laminitis? *Equine Vet. J. Suppl.*, 26: 133–138.
- Patrick, J.; Challis, J.; Campbell, K.; Carmichael, L.; Natale, R.; Richardson, B. (1980). Circadian rhythms in maternal plasma cortisol and estriol concentrations at 30 to 31, 34 to 35 and 38 to 39 weeks' gestational age. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 136(3): 325–334.
- Paulo, E.; Tischner, M. (1985). Activity of D53-bhydroxysteroid dehydrogenase and steroid hormones content in early preimplantation horse embryos. *Folia Histochem. Cytobiol.*, 23(1-2): 81–84.
- Peng, H.; Xue, M.; Xia, A. (2011). Study on changes of IGF-I and leptin levels in serum and placental tissue of preeclampsia patients and their associativity. *Chin. J. Cell. Mol. Immunol.*, 27(2): 192–194.
- Perdomo, D.L. (2012). Serum Dopamine Beta Hydroxylase (D β H) enzyme activity changes within individual women according to stage of pregnancy: Evidence that regulation of expression of D β H differs during pregnancy in women carrying different genotypes at rs1611115. Master's Thesis. Laney Graduate School, Biological and Biomedical Sciences, Genetics and Molecular Biology. Emory University, Atlanta, USA.
- Perez, S.D.; Kozic, B.; Molinaro, C.A.; Thyagarajan, S.; Ghamsary, M.; Lubahn, C.L.; Lorton, D.; Bellinger, D L. (2012). Chronically lowering sympathetic activity protects sympathetic nerves in spleens from aging F344 rats. *J. Neuroimmunol.*, 247(1–2): 38–51.
- Perkins, G.A.; Lamb, S.; Erb, H.N.; Schanbacher, B.; Nydam, D.V.; Divers, T.J. (2002). Plasma adrenocorticotropin (ACTH) concentrations and clinical response in horses treated for equine Cushing's disease with cyproheptadine or pergolide. *Equine Vet. J.*, 34(7): 679–685.

- Persechini, M.L.; Gennero, I.; Grunenwald, S.; Vezzosi, D.; Bennet, A.; Caron, P. (2015). Decreased IGF-1 concentration during the first trimester of pregnancy in women with normal somatotroph function. *Pituitary*, 18(4): 461–464.
- Persico, M.G.; Vincenti, V.; DiPalma, T. (1999). Structure, expression and receptor-binding properties of placenta growth factor (PlGF). *Curr.Top. Microbiol. Immunol.*, 237: 31–40.
- Persson, S. (1967). On blood volume and working capacity in horses. *Studies of methodology and physiological and pathological variations. Acta Vet. Scand., Suppl.* 19: 9-189.
- Petraglia, F. (1991). Placental neurohormones: secretion and physiological implications. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 78(3): C109-C112.
- Petraglia, F.; Sawchenko, P.E.; Rivier, J.; Vale, W. (1987). Evidence for local stimulation of ACTH secretion by corticotropin-releasing factor in human placenta. *Nature*, 328(6132): 717–719.
- Picard, M.; Olichon, D.; Gombert, J. (1985). Determination of serotonin in plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. *J. Chromatogr.*, 341(2): 445–451.
- Piccione, G.; Assenza, A.; Fazio, F.; Percipalle, M.; Caola, G. (2005). Central fatigue and nycthemeral change of serum tryptophan and serotonin in the athletic horse. *J. Circadian Rhythms.*, 3(6): 1–4.
- Pitts, S.C.; Davis, M. (2007). An evidence-based analysis of anabolic steroids as performance enhancers in horses. *Equine Vet. Educ.*, 19(7): 388–391.
- 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. Intern. Med.*, 24(3): 650–654.
- 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. Intern. Med.*, 24(3): 650–654.
- Plotsky, P.M.; Bruhn, T.O.; Vale, W. (1985). Evidence for multifactor regulation of the adrenocorticotropin secretory response to hemodynamic stimuli. *Endocrinology*, 116(2): 633-639.
- Podolak, M.; Kedzierski, W.; Bergero, D. (2006). Comparison of the blood plasma catecholamines level in Thoroughbred and Arabian horses during the same-intensity exercise. *Pol. J. Vet. Sci.*, 9(1): 71–73.
- Polzer, J.; Slater, M.R. (1997). Age, breed, sex and seasonality as risk factors for equine laminitis. *Prev. Vet. Med.*, 29(3): 179–184.
- Poon, L.C.; Zaragoza, E.; Akolekar, R.; Anagnostopoulos, E.; Nicolaides, K.H. (2008). Maternal serum placental growth factor (PlGF) in small for gestational age pregnancy at 11(+0) to 13(+6) weeks of gestation. *Prenat. Diagn.*, 28(12): 1110–1115.
- Pope, N.S.; Sargent, G.F.; Kesler, D.J. (1995). The dexamethasone induced suppression of androgen secretions suppressed estrous behavior in pony mares during the winter. *J. Equine Vet. Sci.*, 15(3): 119–123.
- Portbury, A.L.; Chandra, R.; Groelle, M.; McMillian, M.K.; Elias, A.; Herlong, J.R.; Rios, M.; Roffler-Tarlov, S.; Chikaraishi, D.M. (2003). Catecholamines act via a beta-adrenergic receptor to maintain fetal heart rate and survival. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 284(6): H2069–H2077.
- Powell-Braxton, L.; Hollingshead, P.; Giltinan, D.; Pitts-Meek, S.; Stewart, T. (1993). Inactivation of the IGF-I gene in mice results in perinatal lethality. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 692: 300–301.

- Pozzobon, S.E.; Lagares, M.A.; Brum, D.S.; Leivas, F.G.; Rubin, M.I. (2005). Addition of recombinant human growth hormone to in vitro maturation medium of bovine oocytes. *Reprod. Domest. Anim.*, 40(1): 19–22.
- Prause, A.S.; Stoffel, M.H.; Portier, C.J.; Mevissen, M. (2009). Expression and function of 5-HT7 receptors in smooth muscle preparations from equine duodenum, ileum, and pelvic flexure. *Res. Vet. Sci.*, 87(2): 292–299.
- Rădulescu, C.; Bacărea, A.; Huțanu, A.; Gabor, R.; Dobreanu, M. (2016). Placental Growth Factor, Soluble fms-Like Tyrosine Kinase 1, Soluble Endoglin, IL-6, and IL-16 as Biomarkers in Preeclampsia. *Mediators Inflamm.*, 2016: 3027363.
- Raeside, J.I. (1979). Seasonal changes in the concentration of estrogens and testosterone in the plasma of the stallion. *Anim. Reprod. Sci.*, 1(3): 205–212.
- Raeside, J.I.; Christie, H.L.; MacLeod, J.N. (2008). Plasma testosterone and estrone sulfate concentrations in relation to age in Thoroughbred stallions. *Anim. Reprod. Sci.*, 107(3–4): 343–344.
- Raeside, J.I.; Christie, H.L.; Waelchli, R.O.; Betteridge, K.J. (2012). Biosynthesis of oestrogen by the early equine embryo proper. *Reprod. Fertil. Dev.*, 24(8): 1071–1078.
- Raeside, J.I.; Gofton, N.; Liptop, R.M.; Milne, F.J. (1982). Isolation and identification of steroids from gonadal vein blood of the fetal horse. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 32: 383–387.
- Raeside, J.I.; Renaud, R.L.; Christie, H.L. (1997). Postnatal decline in gonadal secretion of dehydroepiandrosterone and 3 β -hydroxyandrost-5,7-dien-17-one in the newborn foal. *J. Endocrinol.*, 155(2): 277–282.
- Raff, H.; Findling, J. (2003). A physiologic approach to diagnosis of the Cushing Syndrome. *Ann. Intern. Med.*, 138(12): 980–991.
- Rafii, S.; Avecilla, S.; Shmelkov, S.; Shido, K.; Tejada, R.; Moore, M.A.; Heissig, B.; Hattori, K. (2003). Angiogenic factors reconstitute hematopoiesis by recruiting stem cells from bone marrow microenvironment. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 996: 49–60.
- Rakers, F.; Bischoff, S.; Schiffner, R.; Haase, M.; Rupprecht, S.; Kiehnopf, M.; Kuhn-Velten, N.; Schubert, H.; Witte, O.W.; Nijland, M.J.; Nathanielsz, P.W.; Schwab, M. (2015). Role of catecholamines in maternal-fetal stress transfer in sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 213: 684.e1–9.
- Ramamoorthy, S.; Bauman, A.L.; Moore, K.R.; Han, H.; Yang-Feng, T.; Chang, A.S.; Ganapathy, V.; Blakely, R.D. (1993). Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90(6): 2542–2546.
- Ramana Murthy, P.S.; Prema, K. (1983). Plasma dopamine beta-hydroxylase activity in pregnancy-induced hypertension. *Brit. J. Obstet. Gynaecol.*, 90(9): 837–840.
- Rance, T.A.; Park, B.K. (1978). The measurement of oestrone, equilin and dehydroepiandrosterone in the peripheral plasma of pregnant pony mares by radioimmunoassay. *J. Steroid Biochem.*, 9(11): 1065–1069.
- Ratajczak, J.; Zhang, Q.; Pertusini, E.; Wojczyk, B.S.; Wasik, M.A.; Ratajczak, M.Z. (1998). The role of insulin (INS) and insulin-like growth factor-I (IGF-I) in regulating human erythropoiesis. Studies in vitro under serum-free conditions-comparison to other cytokines and growth factors. *Leukemia*, 12(3): 371–381.
- Re, G.; Belloli, C.; Badino, P.; Arioli, F.; Novelli, A.; Girardi, C.; Beretta, C. (1997). Identification of beta-adrenergic receptor subtypes mediating relaxation in isolated

- equine ileum. *Am. J. Vet. Res.*, 58(6): 621–625.
- Reddy, D.S.; Gadsby, J.E. (2009). Hormones affecting reproduction. En: *Veterinary Pharmacology & Therapeutics*. Riviere, J.E.; Papich, M.G. (eds). 9th edition. Wiley-Blackwel, pp. 730.
- Reder, A.T. (1992). Regulation of production of adrenocorticotropin-like proteins in human mononuclear cells. *Immunology*, 77(3): 436–442.
- Redmond, D.E.; Baulu, J.; Dennis, L.; Murphy, D.L.; Loriaux, D.L.; Zeigler, M.G.; Lake, C.R. (1976). The effects of testosterone on plasma and platelet monoamine oxidase (MAO) and plasma dopamine-beta-hydroxylase (DBH) activities in the male rhesus monkey. *Psychosom. Med.*, 38(5): 315–326.
- Redmond, L.M.; Cross, D.L.; Strickland, J.R.; Kennedy, S.W. (1994). Efficacy of domperidone and sulpiride as treatments for fescue toxicosis in horses. *Am. J. Vet. Res.*, 55(5): 722–729.
- Redwine, L.; Snow, S.; Mills, P.; Irwin, M. (2003). Acute psychological stress: effects on chemotaxis and cellular adhesion molecule expression. *Psychosom. Med.*, 65(4): 598–603.
- Rehfeldt, C.; Nissen, P.M.; Kuhn, G.; Vestergaard, M.; Ender, K.; Oksbjerg, N. (2004). Effects of maternal nutrition and porcine growth hormone (pGH) treatment during gestation on endocrine and metabolic factors in sows, fetuses and pigs, skeletal muscle development, and postnatal growth. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 27(3): 267–285.
- Rendle, D.I.; Duz, M.; Beech, J.; Parkin, T.; Durham, A.E. (2015). Investigation of single and paired measurements of adrenocorticotropin hormone for the diagnosis of pituitary pars intermedia dysfunction in horses. *J. Vet. Int. Med.*, 29(1): 355–361.
- Rendle, D.I.; Litchfield, E.; Heller, J.; Hughes, K.J. (2014). Investigation of rhythms of secretion and repeatability of plasma adrenocorticotropin hormone concentrations in healthy horses and horses with pituitary pars intermedia dysfunction. *Equine Vet. J.*, 46(1): 113–117.
- Reppert, S.M.; Weaver, D.R. (2001). Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annu. Rev. Physiol.*, 63: 647–676.
- Reuvekamp, A.; Velsing-Aarts, F.V.; Poulina, I.E.; Capello, J.J.; Duits, A.J. (1999). Selective deficit of angiogenic growth factors characterises pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 106(10): 1019–1022.
- Ribatti, D. (2008). The discovery of the placental growth factor and its role in angiogenesis: A historical review. *Angiogenesis*, 11(3): 215–221.
- Ribeiro, E.S.; Bruno, R.G.; Farias, A.M.; Hernandez-Rivera, J.A.; Gomes, G.C.; Surjus, R.; Becker, L.F.; Birt, A.; Ott, T.L.; Branen, J.R.; Sasser, R.G.; Keisler, D.H.; Thatcher, W.W.; Bilby, T.R.; Santos, J.E. (2014). Low doses of bovine somatotropin enhance conceptus development and fertility in lactating dairy cows. *Biol. Reprod.*, 90(1): 10.
- Riber, C.; Muñoz, A.; Satué, K.; Trigo, P.; Castejón, F.M. (2009). Age and gender should be considered when interpreting serum concentrations of IGF-1 in Spanish foals. *Vet. Clin. Pathol.*, 38: E39.
- Rieck, S.; Kaestner, K.H. (2010). Expansion of beta-cell mass in response to pregnancy. *Trends Endocrinol. Metab.*, 21(3): 151–158.
- Rieger, D.; Luciano, A.M.; Modina, S.; Pocar, P.; Lauria, A.; Gandolfi, F. (1998). The effects of epidermal growth factor and insulin-like growth factor I on the metabolic activity, nuclear maturation and subsequent development of cattle oocytes in vitro. *J. Reprod. Fertil.*, 112(1): 123–130.
- Rietmann, T.R.; Stauffacher, M.; Bernasconi, P.; Auer, J.A.; Weishaupt, M.A.

- (2004). The association between heart rate, heart rate variability, endocrine and behavioural pain measures in horses suffering from laminitis. *J. Vet. Medicine. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 51(5): 218–225.
- Ringholm Nielsen, L.; Juul, A.; Pedersen-Bjergaard, U.; Thorsteinsson, B.; Damm, P.; Mathiesen, E.R. (2008). Lower levels of circulating IGF-I in Type 1 diabetic women with frequent severe hypoglycaemia during pregnancy. *Diabet. Med.*, 25(7): 826–833.
- Riskind, P.N.; Millard, W.J.; Martin, J.B. (1984). Opiate modulation of anterior pituitary hormone response during suckling in the rat. *Endocrinology*, 114(4): 1232–1237.
- Robbins, T.W. (2005). Controlling stress: how the brain protects itself from depression. *Nat. Neurosci.*, 8(3): 261–262.
- Roberts, K.; Hemmings, A.; Moore-Colyer, M.; Hale, C. (2016). Cognitive differences in horses performing locomotor versus oral stereotypic behaviour. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 168: 37–44.
- Roberts, K.; Hemmings, A.J.; Moore-Colyer, M.; Parker, M.O.; McBride, S.D. (2016). Neural modulators of temperament: A multivariate approach to personality trait identification in the horse. *Physiol. Behav.*, 167: 125–131.
- Robson, J.M.; Senior, J.B. (1964). The 5-Hydroxytryptamine content of the placenta and foetus during pregnancy in mice. *Br. J. Pharmacol. Chemother.*, 22: 380–391.
- 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.
- Romero, R.; Nien, J.K.; Espinoza, J.; Todem, D.; Fu, W.; Chung, H.; Kusanovic, J.P.; Gotsch, F.; Erez, O.; Mazaki-Tovi, S.; Gomez, R.; Edwin, S.; Chaiworapongsa, T.; Levine, R.J.; Karumanchi, S. A. (2008). A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.*, 21(1): 9–23.
- Ronca, A.E.; Abel, R.A.; Ronan, P.J.; Renner, K.J.; Alberts, J.R. (2006). Effects of labor contractions on catecholamine release and breathing frequency in newborn rats. *Behav. Neurosci.*, 120(6): 1308–1314.
- Ropp, J.K.; Raub, R.H.; Minton, J.E. (2003). The effect of dietary energy source on serum concentration of insulin-like growth factor-I growth hormone, insulin, glucose, and fat metabolites in weanling horses. *J. Anim. Sci.*, 81(6): 1581–1589.
- Rose'meyer, R. (2013). A review of the serotonin transporter and prenatal cortisol in the development of autism spectrum disorders. *Mol. Autism*, 4(37): 1–16.
- Rosenthal, H.E.; Slaunwhite, W.R.; Sandberg, A.A. (1969). Transcortin: A corticosteroid binding protein of plasma. X. cortisol and progesterone interplay and unbound levels of these steroids in pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 29(3): 352–367.
- Roskoski, R. Jr. (2007). Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 62(3): 179–213.
- Rossdale, P.D.; McGladdery, A.J.; Ousey, J.C.; Holdstock, N.; Grainger, L.; Houghton, E. (1992). Increase in plasma progestagen concentrations in the mare after foetal injection with CRH, ACTH or betamethasone in late gestation. *Equine Vet. J.*, 24(5): 336–337.
- Rowland, D.L.; Steele, M.K.; Moltz, H. (1978). Concentration and metabolism of serotonin in selected brain areas during pregnancy and lactation in the rat. *Neuroendocrinology*, 27(1–2): 25–31.

- Rozario, K.; Lloyd, C.; Ryan, F. (2015). GH and IGF-1 physiology in childhood. En: De Groot, L.J.; Chrousos, G.; Dungan, K.; Feingold, K.R.; Grossman, A.; Hershman, J.M.; Kock, C.; Korbonits, M.; Mclachlan, R.; New, M.; Purnell, J.; Rebar, R.; Singer, F.; Vinik, A. (eds.). Endotext [Internet]. Comprehensive free online endocrinology book. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc. <http://europepmc.org/books/NBK343487>
- Rubí, B.; Ljubicic, S.; Pournourmohammadi, S.; Carobbio, S.; Armanet, M.; Bartley, C.; Maechler, P. (2005). Dopamine D2-like receptors are expressed in pancreatic beta cells and mediate inhibition of insulin secretion. *J. Biol. Chem.*, 280(44): 36824–36832.
- Rubí, B.; Maechler, P. (2010). Minireview: New roles for peripheral dopamine on metabolic control and tumor growth: Let's seek the balance. *Endocrinology*, 151(12): 5570–5581.
- Russell, J.A.; Douglas, A.J.; Brunton, P.J. (2008). Reduced hypothalamo-pituitary-adrenal axis stress responses in late pregnancy. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1148(1): 428–438.
- Saad, G.; Farid, B.; Hossein, H.N.; Hassan, A.M. (2011). Serum testosterone in Arabian stallions during breeding and non-breeding season in Iran. *African J. Biotechnol.*, 10(62): 13636-13639.
- Saarikoski, S. (1988). Effect of oestrogens and progesterone on the metabolic inactivation of noradrenaline in the human placenta. *Placenta*, 9(5): 507-512.
- Sabolovic Rudman, S.; Mustapic, M.; Kosec, V.; Pivac, N.; Rudman, F.; Muck-Seler, D. (2015). Serotonin risk factors for the development of hypertension in pregnancy. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 291(4): 779–785.
- Saez, J.M.; Forest, M.G.; Morera, A.M.; Bertrand, J. (1972). Metabolic clearance rate and blood production rate of testosterone and dihydrotestosterone in normal subjects, during pregnancy, and in hyperthyroidism. *J. Clin. Invest.*, 51(5): 1226–1234.
- Saffer, C.; Olson, G.; Boggess, K.A.; Beyerlein, R.; Eubank, C.; Sibai, B.M. (2013). Determination of placental growth factor (PlGF) levels in healthy pregnant women without signs or symptoms of preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.*, 3(2): 124–132.
- Sagone, I.; Arotta, U. (1966). Rappoerti tra serotonina e monamineossidasi placentari nella gestosi eclamptica. *Ann. Obstet. Gynecol.*, 83: 81-87.
- Sahlin, L.; Norstedt, G.; Eriksson, H. (1994). Androgen regulation of the insulin-like growth factor-I and the estrogen receptor in rat uterus and liver. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 51(1-2): 57-66.
- Saiardi, A.; Borrelli, E. (1998). Absence of dopaminergic control on melanotrophs leads to Cushing's-like syndrome in mice. *Mol. Endocrinol.*, 12(8): 1133–1139.
- Sakai, S.; Wakasugi, T.; Yagi, K.; Ohnishi, A.; Ito, N.; Takeda, Y.; Yamagishi, M. (2011). Successful pregnancy and delivery in a patient with adult GH deficiency: role of GH replacement therapy. *Endocr. J.*, 58(1): 65–68.
- Salamalekis, E.; Bakas, P.; Vitoratos, N.; Eleptheriadis, M.; Creatsas, G. (2006). Androgen levels in the third trimester of pregnancy in patients with preeclampsia. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 126(1): 16–19.
- Salazar-Ortiz, J.; Camous, S.; Briant, C.; Lardic, L.; Chesneau, D.; Guillaume, D. (2011). Effects of nutritional cues on the duration of the winter anovulatory phase and on associated hormone levels in adult female Welsh pony horses (*Equus caballus*). *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 9(130): 1-16.

- Salazar-Ortiz, J.; Monget, P.; Guillaume, D. (2014). The influence of nutrition on the insulin-like growth factor system and the concentrations of growth hormone, glucose, insulin, gonadotropins and progesterone in ovarian follicular fluid and plasma from adult female horses (*Equus caballus*). *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 12(72): 1–12.
- Sale, A.; Cenni, M.C.; Ciucci, F.; Putignano, E.; Chierzi, A.; Maffei, L. (2007). Maternal enrichment during pregnancy accelerates retinal development of the fetus. *PLoS One*, 2(11): E1160.
- Saleri, R.; Giustina, A.; Tamanini, C.; Valle, D.; Burattin, A.; Wehrenberg, W.B.; Baratta, M. (2004). Leptin stimulates growth hormone secretion via a direct pituitary effect combined with a decreased somatostatin tone in a median eminence-pituitary perfusion study. *Neuroendocrinology*, 79(4): 221–228.
- Samper, J.C. (2009). Equine breeding management and artificial insemination. Samper, J.C. (ed.). 2ª ed. Saunders Elsevier.
- Sasaki, A.; Shinkawa, O.; Yoshinaga, K. (1989). Placental corticotropin-releasing hormone may be a stimulator of maternal pituitary adrenocorticotrophic hormone secretion in humans. *J. Clin. Invest.*, 84(6): 1997–2001.
- Sasaki, N.; Okamura, K.; Yamada, H. (2005). Effects of mosapride, a 5-hydroxytryptamine 4 receptor agonist, on electrical activity of the small intestine and cecum in horses. *Am. J. Vet. Res.*, 66(8): 1321-1323.
- Satué, K.; Domingo, R. (2011). Longitudinal study of the renin 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.
- Satué, K.; Gardón, J.C.; Montesinos, P. (2012). Aldosterone and progesterone concentrations during luteal phase in Spanish Purebred mares. *Reprod. Domest. Anim.*, 47(3): 94.
- Satué, K.; Montesinos, P.; Gardón, J.C. (2014). Relationship between cortisol and progesterone in cyclic spanish purebred mares during the luteal phase of estrous cycle. *Reprod. Domest. Anim.*, 49(4): 101.
- Schlafer, D.H.; Miller, R.B. (2007). Female genital system. En: *Pathology of domestic animals*. Maxie, M.G. (ed). 5ª ed. Editorial Saunders, Ontario, pp. 431- 563.
- Schmidt, A.; Höld, S.; Möstl, E.; Aurich, J.; Müller, J.; Aurich C. (2010). Cortisol release, heart rate, and heart rate variability in transport-naive horses during repeated road transport. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 39(3): 205-213.
- Schmitz, D.G. (2004). Toxicologic problems: Tall Fescue (*Festuca arundinacea*). En: *Equine Internal Medicine*. Reed, M. S.; Bayly, W. B.; Sellon, D. C. (eds.). 2ª ed. Saunders, EEUU, pp. 1493-1494.
- Scholtz, E.L.; Krishnan, S.; Ball, B.A.; Corbin, C.J.; Moeller, B.C.; Stanley, S.D.; McDowell, K.J.; Hughes, A.L.; McDonnell, D.P.; Conley, A.J. (2014). Pregnancy without progesterone in horses defines a second endogenous biopotent progesterone receptor agonist, 5 α -dihydroprogesterone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 111(9): 3365–3370.
- Schraenen, A.; Lemaire, K.; de Faudeur, G.; Hendrickx, N.; Granvik, M.; Van Lommel, L.; Mallet, J.; Vodjdani, G.; Gilon, P.; Binart, N.; in't Veld, P.; Schuit, F. (2010). Placental lactogens induce serotonin biosynthesis in

- a subset of mouse beta cells during pregnancy. *Diabetologia*, 53(12): 2589–2599.
- Schreiber, C.M.; Stewart, A.J.; Kwessi, E.; Behrend, E.N.; Wright, J.C.; Kemppainen, R.J.; Busch, K.A. (2012). Seasonal variation in results of diagnostic tests for pituitary pars intermedia dysfunction in older, clinically normal geldings. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 241(2): 241–248.
- Scott, C.M.; Marlin, D.J.; Schroeter, R.C. (2001). Quantification of the response of equine apocrine sweat glands to beta2-adrenergic stimulation. *Equine Vet. J.*, 33(6): 605-612.
- Scott, E.M.; McGarrigle, H.H.; Lachelin, G.C. (1990). The increase in plasma and saliva cortisol levels in pregnancy is not due to the increase in corticosteroid-binding globulin levels. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 71(3): 639–644.
- Seckl, J.R.; Meaney, M.J. (2004). Glucocorticoid programming. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1032: 63-84.
- Seddighi, R.; Doherty, T.J. (2012). Anesthesia of the geriatric equine. *Int. J. Vet. Med. Res. Rep.*, 3: 53–64.
- Segal, S.; Wang, S.Y. (2008). The effect of maternal catecholamines on the caliber of gravid uterine microvessels. *Anesth. Analg.*, 106(3): 888–892.
- Selman, P.J.; Mol, J.A.; Rutteman, G.R.; Rijnberk, A. (1994). Progestin treatment in the dog. I. Effects on growth hormone, insulin-like growth factor I and glucose homeostasis. *Eur. J. Endocrinol.*, 131(4): 413–421.
- Senard, J.M.; Rouet, P. (2006). Dopamine beta-hydroxylase deficiency. *Orphanet. J. Rare Dis.*, 1: 7.
- Seren, E.; Tamanini, C.; Gaiani, R.; Bono, G. (1981). Concentrations of progesterone, 17 alpha-hydroxyprogesterone and 20 alpha-dihydroprogesterone in the plasma of mares during pregnancy and at parturition. *J. Reprod. Fertil.*, 63(2): 443–448.
- Serin, I.S.; Kula, M.; Basbug, M.; Unlühizarci, K.; Güçer, S.; Tayyar, M. (2001). Androgen levels of preeclamptic patients in the third trimester of pregnancy and six weeks after delivery. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 80(11): 1009-1013.
- Sferruzzi-Perri, A.N.; Owens, J.A.; Standen, P.; Taylor, R.L.; Heinemann, G.K.; Robinson, J.S.; Roberts, C.T. (2007). Early treatment of the pregnant guinea pig with IGFs promotes placental transport and nutrient partitioning near term. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 292(3): E668-E676.
- Shah, N.; Evans, W.S.; Veldhuis, J.D. (1999). Actions of estrogen on the pulsatile, nyctohemeral, and entropic modes of growth hormone secretion. *Am. J. Physiol.*, 276(5 Pt 2): R1351–R1358.
- Sheffield-Moore, M.; Paddon-Jones, D.; Casperson, S.L.; Gilkison, C.; Volpi, E.; Wolf, S.E.; Jiang, J.; Rosenblatt, J.I.; Urban, R. J. (2006). Androgen therapy induces muscle protein anabolism in older women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 91(10): 3844–3849.
- Sheppard, B.L.; Bonnar, J. (1999). Uteroplacental hemostasis in intrauterine fetal growth retardation. *Semin. Thromb. Hemost.*, 25(5): 443–446.
- Shetty, D.N.; Pathak, S.S. (2002). Correlation between plasma neurotransmitters and memory loss in pregnancy. *J. Reprod. Med.*, 47(6): 494–496.
- Shimada, M.; Date, Y.; Mondal, M.S.; Toshinai, K.; Shimbara, T.; Fukunaga, K.; Murakami, N.; Miyazato, M.; Kangawa, K.; Yoshimatsu, H.; Matsuo, H.; Nakazato, M. (2003). Somatostatin suppresses ghrelin secretion from the rat stomach. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 302(3): 520-525.
- Shingala, J.R.; Balaraman, R. (2005). Antihypertensive effect of 5-HT1A agonist buspirone and 5-HT2B antagonists in experimentally induced hypertension in rats. *Pharmacology*, 73(3): 129-139.

- Shohamy, D.; Wimmer, G.E. (2013). Dopamine and the cost of aging. *Nat. Neurosci.*, 16(5): 519–521.
- Si, J.; Ge, Y.; Zhuang, S.; Wang, L.J.; Chen, S.; Gong, R. (2013). Adrenocorticotrophic hormone ameliorates acute kidney injury by steroidogenic-dependent and -independent mechanisms. *Kidney Int.*, 83(4): 635–646.
- Sibai, B.M.; Frangieh, A. (1995). Maternal adaptation to pregnancy. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 7: 420-426.
- Šichtař, J.; Rajmon, R.; Hořková, K.; Řehák, D.; Vostrý, L.; Hartlová, H. (2013). The luteal blood flow, area and pixel intensity of corpus luteum, levels of progesterone in pregnant and nonpregnant mares in period of 16 days after ovulation. *Czech J. Anim. Sci.*, 58(11): 512–519.
- Sifakis, S.; Akolekar, R.; Kappou, D.; Mantas, N.; Nicolaidis, K.H. (2012). Maternal serum placental growth hormone at 11–13 weeks' gestation in pregnancies delivering small for gestational age neonates. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.*, 25(9): 1796–1799.
- Silberzahn, P.; Quincey, D.; Rosier, C.; Leymarie, P. (1978). Testosterone and progesterone in peripheral plasma during the oestrous cycle of the mare. *J. Reprod. Fertil.*, 53(1): 1–5.
- Silberzahn, P.; Rashed, F.; Zwain, I.; Leymarie, P. (1984). Androstenedione and testosterone biosynthesis by the adrenal cortex of the horse. *Steroids*, 43(2): 147–152.
- Silberzahn, P.; Zwain, I.; Martin, B. (1984). Concentration increase of unbound testosterone in plasma of the mare throughout pregnancy. *Endocrinology*, 115(1): 416–419.
- Silva, J.R.; Figueiredo, J.R.; van den Hurk, R. (2009). Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. *Theriogenology*, 71(8): 1193–1208.
- Silva, L.A.; Klein, C.; Ealy, A.D.; Sharp, D.C. (2011). Conceptus-mediated endometrial vascular changes during early pregnancy in mares: An anatomic, histomorphometric, and vascular endothelial growth factor receptor system immunolocalization and gene expression study. *Reproduction*, 142(4): 593–603.
- Silver, M. (1984). Some aspects of equine placental exchange and foetal physiology. *Equine Vet. J.*, 16(4): 227–233.
- Silver, M. (1990). Prenatal maturation, the timing of birth and how it may be regulated in domestic animals. *Exp. Physiol.*, 75(3): 285-307.
- Silver, M.; Edwards, A.V. (1980) The development of the sympatho-adrenal system with an assessment of the role of the adrenal medulla in the fetus and neonate. En: *Biogenic amines in development*. Parvez, H.; Parvez, S. (eds). Elsevier, North Holland. pp 147-211.
- Silver, M.; Fowden, A.L. (1982). Uterine prostaglandin F metabolite production in relation to glucose availability in late pregnancy - the possible influence of diet on time of delivery in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 32: 511-519.
- Silver, M.; Fowden, A.L. (1994). Parturition adrenocortical maturation in the fetal foal. *J. Endocrinol.*, 142(3): 417–425.
- Silver, M.; Fowden, A.L. (1995). Sympathoadrenal and other endocrine and metabolic responses to hypoglycaemia in the fetal foal during late gestation. *Exp. Physiol.*, 80(4): 651–662.
- Silver, M.; Fowden, A.L.; Knox, J.; Ousey, J.; Franco, R.; Rosedale, P.D. (1987). Sympathoadrenal and other responses to hypoglycaemia in the young foal. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 35: 607-614.
- Silver, M.; Ousey, J.C.; Dudan, F.E.; Fowden, A.L.; Knox, J.; Cash, R.S.G.; Rosedale, P.D. (1984). Studies on equine prematurity 2: Postnatal adrenocortical activity in relation to plasma

- adrenocorticotrophic hormone and catecholamine levels in term and premature foals. *Equine Vet. J.*, 16: 278-285.
- Simmen, F.A.; Simmen, R.C.; Geisert, R.D.; Martinat-Botte, F.; Bazer, F.W.; Terqui, M. (1992). Differential expression during the estrous cycle and pre- and postimplantation conceptus development, of messenger ribonucleic acids encoding components of the pig uterine insulin-like growth factor system. *Endocrinology*, 130(3): 1547–1556.
- Simmer, H.H.; Tulchinsky, D.; Gold, E.M.; Frankland, M.; Greipel, M.; Gold, A.S. (1974). On the regulation of estrogen production by cortisol and ACTH in human pregnancy at term. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 119(3): 283-296.
- Sirois, J.; Kimmich, T.L.; Fortune, J.E. (1991). Steroidogenesis by equine preovulatory follicles: relative roles of theca interna and granulosa cells. *Endocrinology*, 128(2): 1159–1166.
- Skottner, A. (2012). Biosynthesis of growth hormone and insulin-like growth factor-I and the regulation of their secretion. *Open Endocrinol. J.*, 6(Suppl. 1): 3–12.
- Slater, M.R.; Hood, D.M.; Carter, G.K. (1995). Descriptive epidemiological study of equine laminitis. *Equine Vet. J.*, 27(5): 364–367.
- Slominski, A.; Zbytek, B.; Szczesniowski, A.; Semak, I.; Kaminski, J.; Sweatman, T.; Wortsman, J. (2005). CRH stimulation of corticosteroids production in melanocytes is mediated by ACTH. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 288(4): 701-706.
- Slot, K.A.; Kastelij, J.; Bachelot, A.; Kelly, P.A.; Binart, N.; Teerds, K.J. (2006). Reduced recruitment and survival of primordial and growing follicles in GH receptor-deficient mice. *Reproduction*, 131(3): 525–532.
- Smith, G.C.S.; Crossley, J.A.; Aitken, D.A.; Jenkins, N.; Lyall, F.; Cameron, A.D.; Connor, J.M.; Dobbie, R. (2007). Circulating angiogenic factors in early pregnancy and the risk of preeclampsia, intrauterine growth restriction, spontaneous preterm birth, and stillbirth. *Obstet. Gynecol.*, 109(6): 1316–1324.
- Snow, D.H.; Harris, R.C.; MacDonald, I.A.; Forster, C.D.; Marlin, D.J. (1992). Effects of high-intensity exercise on plasma catecholamines in the Thoroughbred horse. *Equine Vet. J.*, 24(6): 462–467.
- Snow, D.H.; Munro, C.D.; Nimmo, M.A. (1982). Effects of nandrolone phenylpropionate in the horse: (2) General effects in animals undergoing training. *Equine Vet. J.*, 14(3): 224–228.
- Söder, J.; Bröjer, J.T.; Nostell, K.E. (2012). Interday variation and effect of transportation on indirect blood pressure measurements, plasma endothelin-1 and serum cortisol in Standardbred and Icelandic horses. *Acta Vet. Scand.*, 54(1): 37.
- Soma, L.R.; Uboh, C.E.; Guan, F.; McDonnell, S.; Pack, J. (2007). Pharmacokinetics of boldenone and stanozolol and the results of quantification of anabolic and androgenic steroids in race horses and nonrace horses. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 30(2): 101–108.
- Soma, L.R.; Uboh, C.E.; Guan, F.; McDonnell, S. (2008) Plasma concentrations of testosterone and 19-nortestosterone (nandrolone) in the non-racing intact male horse by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 31: 587–590.
- Sophie S. (2007). Anaesthesia for the elderly patient. *J. Pak. Med. Assoc.*, 57(4): 196–201.
- Sorenson, R.L.; Brelje, T.C. (1997). Adaptation of islets of Langerhans to pregnancy: beta-cell growth, enhanced insulin secretion and the role of lactogenic hormones. *Horm. Metab. Res.*, 29(6): 301–307.

- Spelta, C. (2015). Equine pituitary pars intermedia dysfunction: current perspectives on diagnosis and management. *Vet. Med. Res. Rep.*, 2015(6): 293-230.
- Spencer, G.S.; Robinson, G.M.; Berry, C.J.; Dobbie, P.M. (1994). Alteration of maternal growth hormone levels during pregnancy influences both fetal and postnatal growth in rats. *Biol. Neonate*, 66(2-3): 112-118.
- Spencer, T.E.; Stagg, A.G.; Taylor, K.M.; Johnson, G.A.; Gertler, A.; Gootwine, E.; Bazer, F.W. (1999). Effects of recombinant ovine interferon tau, placental lactogen and growth hormone on ovine endometrial function. *Biol. Reprod.*, 61(6): 1409-1418.
- Spicer, L.J.; Santiago, C.A.; Davidson, T.R.; Bridges, T.S.; Chamberlain, C.S. (2005). Follicular fluid concentrations of free insulin-like growth factor (IGF)-I during follicular development in mares. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 29(4): 573-581.
- Spor, A.; Koren, O.; Ley, R. (2011). Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.*, 9(4): 279-290.
- Spratt, D.I.; Cox, P.; Orav, J.; Moloney, J.; Bigos, T. (1993). Reproductive axis suppression in acute illness is related to disease severity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 76(6): 1548-1554.
- Spratt, D.I.; Morton, J.R.; Kramer, R.S.; Mayo, S.W.; Longcope, C.; Vary, C.P.H. (2006). Increases in serum estrogen levels during major illness are caused by increased peripheral aromatization. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.*, 291(3): E631-E638.
- Squires, E.L.; Voss, J.L.; Maher, J.M.; Shideler, R.K. (1985). Fertility of young mares after long-term anabolic steroid treatment. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 186(6): 583-587.
- Ssewanyana, E.; Lincoln, G.A.; Linton, E.A.; Lowry, P.J. (1990). Regulation of the seasonal cycle of beta-endorphin and ACTH secretion into the peripheral blood of rams. *J. Endocrinol.*, 124(3): 443-454.
- Stabenfeldt, G.H.; Daels, P.F.; Munro, C.J.; Kindahl, H.; Hughes, J.P.; Lasley, B. (1991). An oestrogen conjugate enzyme immunoassay for monitoring pregnancy in the mare: limitations of the assay between days 40 and 70 of gestation. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 44: 37-44.
- Staniar, W.B.; Kronfeld, D.S.; Akers, R.M.; Harris, P.A. (2007). Insulin-like growth factor I in growing Thoroughbreds. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 91(9-10): 390-399.
- Stefano, G.B.; Smith, E.M. (1996). Adrenocorticotropin--a central trigger in immune responsiveness: tonal inhibition of immune activation. *Med. Hypotheses*, 46(5): 471-478.
- Sterle, J.A.; Cantley, T.C.; Lamberson, W.R.; Lucy, M.C.; Gerrard, D.E.; Matteri, R.L.; Day, B.N. (1995). Effects of recombinant porcine somatotropin on placental size, fetal growth, and IGF-I and IGF-II concentrations in pigs. *J. Anim. Sci.*, 73(10): 2980-2985.
- Stevens, A.D.; Lumbers, E.R. (1995). Effects of intravenous infusions of noradrenaline into the pregnant ewe on uterine blood flow, fetal renal function, and lung liquid flow. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 73(2): 202-208.
- Stewart, B.L.; Roser, J.F. (1998). Effects of age, season, and fertility status on plasma and intratesticular immunoreactive (IR) inhibin concentrations in stallions. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 15(2): 129-139.
- Stewart, F.; Goode, J.A.; Allen, W.R. (1993). Growth hormone secretion in the horse: unusual pattern at birth and pulsatile secretion through to maturity. *J. Endocrinol.*, 138(1): 81-89.
- Stewart, F.; Leigh, S.E.; Thomson, J.A. (1987). Application of recombinant DNA techniques to structure-function studies of equine protein hormones. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 35: 1-8.

- Stewart, F.; Power, C.A.; Lennard, S.N.; Allen, W.R.; Amet, L.; Edwards, R.M. (1994). Identification of the horse epidermal growth factor (EGF) coding sequence and its use in monitoring EGF gene expression in the endometrium of the pregnant mare. *J. Mol. Endocrinol.*, 12(3): 341–350.
- Sticker, L.S.; Thompson, D.L.; Fernandez, J.M.; Bunting, L.D.; DePew, C.L. (1995). Dietary protein and (or) energy restriction in mares: plasma growth hormone, IGF-1, prolactin, cortisol, and thyroid hormone responses to feeding, glucose and epinephrine. *J. Anim. Sci.*, 73(5): 1424–1432.
- Stirrat, L.I.; O'Reilly, J.R.; Barr, S.M.; Andrew, R.; Riley, S.C.; Howie, A.F.; Bowman, M.; Smith, R.; Lewis, J.G.; Denison, F.C.; Forbes, S.; Seckl, J.R.; Walker, B.R.; Norman, J.E.; Reynolds, R.M. (2016). Decreased maternal hypothalamic-pituitary adrenal axis activity in very severely obese pregnancy: Associations with birthweight and gestation at delivery. *Psychoneuroendocrinology*, 63: 135-143.
- Stonestreet, B.S.; Piasecki, G.J.; Susa, J.B.; Jackson, B.T. (1989). Effects of insulin infusion on plasma catecholamine concentration in fetal sheep. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 160(3): 740-745.
- Storer, W.A.; Thompson, D.L.; Waller, C.A.; Cartmill, J.A. (2007). Hormonal patterns in normal and hyperleptinemic mares in response to three common feeding-housing regimens. *J. Anim. Sci.*, 85(11): 2873–2881.
- Straka, M. (2011). Pregnancy and periodontal tissues. *Neuro Endocrinol. Lett.*, 32(1): 34–38.
- Stull, C.L.; Rodiek, A.V. (1988). Response of blood glucose, insulin and cortisol concentrations to common equine diets. *J. Nutr.*, 118(2): 206-213.
- Stunes, A.K.; Reseland, J.E., Hauso, O.; Kidd, M.; Tømmerås, K.; Waldum, H.L.; Syversen, U.; Gustafsson, B.I. (2011). Adipocytes express a functional system for serotonin synthesis, reuptake and receptor activation. *Diabetes Obes. Metab.*, 13(6): 551–558.
- Su, Y.; Liebhaber, S.A.; Cooke, N.E. (2000). The human growth hormone gene cluster locus control region supports position-independent pituitary- and placenta-specific expression in the transgenic mouse. *J. Biol. Chem.*, 275(11): 7902–7909.
- Su, Y.N.; Lee, C.N.; Cheng, W.F.; Shau, W.Y.; Chow, S.N.; Hsieh, F.J. (2001). Decreased maternal serum placenta growth factor in early second trimester and preeclampsia. *Obstet. Gynecol.*, 97(6): 898–904.
- Sugimoto, Y.; Yamada, J.; Kimura, I.; Watanabe, Y.; Horisaka, K. (1992). The effects of the serotonin1A receptor agonist buspirone on the blood glucose and pancreatic hormones in rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, 60(2): 145–148.
- Sullivan, E.L.; Grayson, B.; Takahashi, D.; Robertson, N.; Maier, A.; Bethea, C.L.; Smith, M.S.; Coleman, K.; Grove, K.L. (2010). Chronic consumption of a high-fat diet during pregnancy causes perturbations in the serotonergic system and increased anxiety-like behavior in nonhuman primate offspring. *J. Neurosci.*, 30(10): 3826–3830.
- Sumara, G.; Sumara, O.; Kim, J.K.; Karsenty, G. (2012). Gut-derived serotonin is a multifunctional determinant to fasting adaptation. *Cell Metab.*, 16(5): 588–600.
- Sun, M.; Maliqueo, M.; Benrick, A.; Johansson, J.; Shao, R.; Hou, L.; Jansson, T.; Wu, X.; Stener-Victorin, E. (2012). Maternal androgen excess reduces placental and fetal weights, increases placental steroidogenesis, and leads to long-term health effects in their female offspring. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 303(11): E1373–E1385.
- Sundrani, D.; Khot, V.; Pisal, H.; Mehendale, S.; Wagh, G.; Joshi, A.; Joshi, S. (2013). Gestation dependant changes in

- angiogenic factors and their associations with fetal growth measures in normotensive pregnancy. *Plos One*, 8(1): 1–8.
- Sundstrom, E.; Kolare, S.; Souverbie, F.; Samuelsson, E.B.; Pschera, H.; Lunell, N.O.; Seiger, A. (1993). Neurochemical differentiation of human bulbospinal monoaminergic neurons during the first trimester. *Brain Res. Dev. Brain Res.*, 75(1): 1–12.
- Taborskaya, K.I.; Frolova, M.Y.; Kuleva, N.V. (2016). Comparative analysis of serotonin levels in rat platelets, serum and brain on the aging. *Tsitologiya*, 58(2): 115-119.
- Tada, K.; Kudo, T.; Kishimoto, Y. (1991). Effects of L-dopa or dopamine on human decidual prostaglandin synthesis. *Acta Med. Okayama*, 45(5): 333–338.
- Tafet, G.E.; Toister-Achituv, M.; Shinitzky, M. (2001). Enhancement of serotonin uptake by cortisol: a possible link between stress and depression. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.*, 1(1): 96–104.
- Tait, A.D.; Santikarn, L.C.; Allen, W.R. (1983). Identification of 3 β -hydroxy-5,7pregnandien-20-one and 3 β -hydroxy-5,7androstadien-17-one as endogenous steroids in the foetal horse gonad. *J. Endocrinol.*, 99: 87-92.
- Takeda, S.; Elefteriou, F.; Levasseur, R.; Liu, X.; Zhao, L.; Parker, K.L; Armstrong, D.; Ducy, P.; Karsenty, G. (2002). Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell*, 111(3): 305–317.
- Takeshita, R.S.; Huffman, M.A.; Bercovitch, F.B.; Mouri, K.; Shimizu, K. (2013). The influence of age and season on fecal dehydroepiandrosterone-sulfate (DHEAS) concentrations in Japanese macaques (*Macaca fuscata*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 191: 39–43.
- Talamantes, F.; Ogren, L.; Thordarson, G.; Southard, J. (1988). The mouse placental lactogens. *En: Prolactin Gene Family and its Receptors*. Hoshino, K. (ed.) *Excerpta Medica*, Amsterdam, pp. 145–154.
- Tamaki, T.; Uchiyama, S.; Uchiyama, Y.; Akatsuka, A.; Roy, R.R.; Edgerton, V.R. (2001). Anabolic steroids increase exercise tolerance. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 280(6): E973-E981.
- Tannenbaum, G.S.; Epelbaum, J.; Bowers, C.Y. (2003). Interrelationship between the novel peptide ghrelin and somatostatin/growth hormone-releasing hormone in regulation of pulsatile growth hormone secretion. *Endocrinology.*, 144(3): 967-974.
- Taylor, R.N.; Grimwood, J.; Taylor, R.S. McMaster, M.T.; Fischer, S.J.; North, R.A. (2003). Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 188(1): 177-182.
- Terblanche, H.M.; Maree, L. (1981). Plasma progesterone levels in the mare during the oestrous cycle and pregnancy. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 52(3): 181–185.
- Terqui, M.; Palmer, E. (1979). Oestrogen pattern during early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 27: 441-446.
- Teubner, A.; Müller, K.; Bartmann, C.P.; Sieme, H.; Klug, E.; Zingrebe, B.; Schoon, H.A. (2015). Effects of anabolic steroid (Durateston) on testicular angiogenesis in peripubertal stallions. *Theriogenology*, 84(3): 323-332.
- Texeira, P.G.; Cabral, A.C. Andrade, S.P.; Reis, Z.S.; da Cruz, L.P.; Pereira, J.B.; Martins, B.O.; Rezende, C.A. (2008). Placental growth factor (PlGF) is a surrogate marker in preeclamptic hypertension. *Hypertens. Pregnancy*, 27(1): 65-73.
- Thadhani, R.; Mutter, W.P.; Wolf, M.; Levine, R.J.; Taylor, R.N.; Sukhatme, V.P.; Ecker, J.; Karumanchi, S.A. (2004). First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk

- for preeclampsia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 89(2): 770–775.
- Thomas, M.; Keramidas, M.; Monchaux, E.; Feige, J.-J. (2004). Dual hormonal regulation of endocrine tissue mass and vasculature by adrenocorticotropin in the adrenal cortex. *Endocrinology*, 145(9): 4320–4329.
- Thomas, M.G.; Bennett-Wimbush, K.; Keisler, D.H.; Loch, W.E. (1998). Plasma concentrations of growth hormone and insulin-like growth factor-I in prepuberal quarter horses and ponies. *J. Equine Vet. Sci.*, 18(1): 52–55.
- Thompson, D.L.; Pickett, B.W.; Berndtson, W.E.; Voss, J.L.; Nett, T.M. (1977). Reproductive physiology of the stallion. VIII. Artificial photoperiod, collection interval and seminal characteristics, sexual behavior and concentrations of LH and testosterone in serum. *J. Anim. Sci.* 44(4): 656-664.
- Thompson, D.L.Jr.; DePew, C.L.; Ortiz, A.; Sticker, L.S.; Rahmanian, M.S. (1994). Growth hormone and prolactin concentrations in plasma of horses: Sex differences and the effects of acute exercise and administration of growth hormone-releasing hormone. *J. Anim. Sci.*, 72(11): 2911–2918.
- Thompson, D.L.Jr.; Rahmanian, M.S.; DePew, C.L.; Burleigh, D.W.; DeSouza, C.J.; Colborn, D.R. (1992). Growth hormone in mares and stallions: Pulsatile secretion, response to growth hormone-releasing hormone and effects of exercise, sexual stimulation and pharmacological agents. *J. Anim. Sci.*, 70(4): 1201–1207.
- Thomson, M.; Chan, E.C.; Falconer, J.; Madsen, G.; Geraghty, S.; Curryert, N.; Boulton, J.; Smith, R. (1990). Desensitization of superfused isolated ovine anterior pituitary cells to human corticotropin-releasing factor. *J. Neuroendocrinol.*, 2(2): 181-187.
- Thorburn, G.D. (1993). A speculative view of parturition in the mare. *Equine Vet. J.*, 14: 41-49.
- Thornton, J.R. (1985). Hormonal responses to exercise and training. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 1(3): 477–496.
- Thuesen, L.; Jorgensen, J.O.; Müller, J.R.; Kristensen, B.O.; Skakkebaek, N.E.; Vahl, N.; Christiansen, J.S. (1994). Short- and long-term cardiovascular effects of growth hormone therapy in growth hormone deficient adults. *Clin. Endocrinol.*, 41(5): 615-620.
- Tidwell, S.C.; Ho, H.N.; Chiu, W.H.; Torry, R.J.; Torry, D.S. (2001). Low maternal serum levels of placenta growth factor as an antecedent of clinical preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 184(6): 1267–1272.
- Tischner, M. Jr.; Niezgoda, J. (2000). Effect of transport on the intensity of stress reactions in mares and foals. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 56: 725–730.
- Tischner, M.Jr.; Niezgoda, J.; Tischner, M. (2006). Intensity of stress reaction in the mare during transportation at different stages of ovarian activity and pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.*, 94(1): 234-237.
- Tjoa, M.L.; van Vugt, J.M.; Mulders, M.A.; Schutgens, R.B.; Oudejans, C.B.; van Wijk, I.J. (2001). Plasma placenta growth factor levels in midtrimester pregnancies. *Obstet. Gynecol.*, 98(4): 600–607.
- Todini, L.; Malfatti, A.; Terzano, G.M.; Borghese, A.; Pizzillo, M.; Debenedetti, A. (2007). Seasonality of plasma testosterone in males of four Mediterranean goat breeds and in three different climatic conditions. *Theriogenology*, 67(3): 627–631.
- Torfs, S.C.; Maes, A.A.; Delesalle, C.J.; Deprez, P.; Croubels, S.M. (2012). Comparative analysis of serotonin in equine plasma with liquid chromatography--tandem mass spectrometry and enzyme-linked

- immunosorbent assay. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 24(6): 1035–1042.
- Torfs, S.C.; Maes, A.A.; Delesalle, C.J.; Pardon, B.; Croubels, S.M.; Deprez, P. (2015). Plasma serotonin in horses undergoing surgery for small intestinal colic. *Can. Vet. J.*, 56(2): 178–184.
- 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.). 2nd edition, Saunders, EEUU, pp. 1327-1339.
- Toribio, R.E. (2005). Diagnosing equine pars intermedia dysfunction: are we there yet? *J. Vet. Intern. Med.*, 19(2): 145-146.
- Toribio, R.E. (2011). Endocrine dysregulation in critically ill foals and horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 27(1): 35–47.
- Toriola, A.T.; Väärasmäki, M.; Lehtinen, M.; Zeleniuch-Jacquotte, A.; Lundin, E.; Rodgers, K.G.; Chen, T.; Schock, H.; Hallmans, G.; Pukkala, E.; Toniolo, P.; Grankvist, K.; Surcel, H.M.; Lukanova, A. (2011). Determinants of maternal sex steroids during the first half of pregnancy. *Obstet. Gynecol.*, 118(5): 1029–1036.
- Torry, D.S.; Hinrichs, M.; Torry, R.J. (2004). Determinants of placental vascularity. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 51: 257-268.
- Torry, D.S.; Wang, H.S.; Wang, T.H.; Caudle, M.R.; Torry, R.J. (1998). Preeclampsia is associated with reduced serum levels of placenta growth factor. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 179(6): 1539–1544.
- Torry, D.S.; Leavenworth, J.; Chang, M.; Maheshwari, V.; Groesch, K.; Ball, E.R.; Torry, R.J. (2007). Angiogenesis in implantation. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 24(7): 303–315.
- Traish, A.M.; Kim, N.; Min, K.; Munarriz, R.; Goldstein, I. (2002). Role of androgens in female genital sexual arousal: receptor expression, structure, and function. *Fertil. Steril.*, 77(4): 11–18.
- Treiber K.H.; Boston R.C.; Kronfeld D.S.; Staniar W.B.; Harris P.A. (2005). Insulin resistance and compensation in Thoroughbred weanlings adapted to high glycemic meals. *J. Anim. Sci.*, 83(10): 2357–2364.
- Tremblay, I.S.; Burton, J.H.; Zhao, X.; Summers, M. (1993). Insulin-like growth factor-I concentration in growing horses. En: *Proceedings of 13th Equine Nutrition and Physiology Symposium, Florida, USA*, pp. 82.
- Trim, C.M.; Moore, J.N.; Clark, E.S. (1989). Renal effects of dopamine infusion in conscious horses. *Equine Vet. J. Suppl.*, (7): 124–128.
- Trim, C.M.; Moore, J.N.; Hardee, M.M.; Hardee, G.E.; Slade, E.A. (1991). Effects of an infusion of dopamine on the cardiopulmonary effects of *Escherichia coli* endotoxin in anaesthetised horses. *Res. Vet. Sci.*, 50(1): 54–63.
- Troisi, R.; Hoover, R.N.; Thadhani, R.; Hsieh, C.C.; Sluss, P.; Ballard-Barbash, R.; Potischman, N. (2008). Maternal, prenatal and perinatal characteristics and first trimester maternal serum hormone concentrations. *Br. J. Cancer*, 99(7): 1161–1164.
- Troisi, R.; Potischman, N.; Roberts, J.; Siiteri, P.; Daftary, A.; Sims, C.; Hoover, R.N. (2003). Associations of maternal and umbilical cord hormone concentrations with maternal, gestational and neonatal factors. *Cancer Causes Control*, 14(4): 347–355.
- Trudeau, V.L.; Meijer, J.C.; van der Wiel, D.F.; Bevers, M.M.; Erkens J.H. (1988). Effects of morphine and naloxone on plasma levels of LH, FSH, prolactin and growth hormone in the immature male pig. *J. Endocrinol.*, 119(3): 501–508.
- Tsiakkas, A.; Duvdevani, N.; Wright, A.; Wright, D.; Nicolaides, K.H. (2015). Serum placental growth factor in the three trimesters of pregnancy: effects of

- maternal characteristics and medical history. *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 45(5): 591–598.
- 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.
- Tuck, M.L. (1986). The sympathetic nervous system in essential hypertension. *Am. Heart J.*, 112(4): 877–886.
- Tudhope, S.J.; Wang, C.C.; Petrie, J.L.; Potts, L.; Malcomson, F.; Kieswich, J.; Yagoob, M.M.; Arden, C.; Hampson, L.J.; Agius, L. (2012). A novel mechanism for regulating hepatic glycogen synthesis involving serotonin and cyclin-dependent kinase-5. *Diabetes*, 61(1): 49–60.
- Tunbridge, R.D.; Donnai, P. (1981). Plasma noradrenaline in normal pregnancy and in hypertesion of late pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 88(2): 105-108.
- Tyce, G.M. (1990). Origin and metabolism of serotonin. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 16(Suppl. 3): 1-7.
- Umezaki, H.; Hess, D.L.; Valenzuela, G.J.; Ducsay, C.A. (2001). Fetectomy alters maternal pituitary-adrenal function in pregnant rhesus macaques. *Biol. Reprod.*, 65(5): 1616–1621.
- Urban, J.; Radwan, J.; Laudanski, T.; Akerlund, M. (1982). Dopamine influence on human uterine activity at term pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 89(6): 451–455.
- Uz, T.; Akhisaroglu, M.; Ahmed, R.; Manev, H. (2003). The pineal gland is critical for circadian Period1 expression in the striatum and for circadian cocaine sensitization in mice. *Neuropsychopharmacology*, 28(12): 2117-2123.
- Vaillancourt, C.; Petit, A.; Bélisle, S. (1997). Interaction of D2-dopamine receptor with two pertussis toxin sensitive G proteins in human placenta. *Life Sci.*, 60(16): 1365–1375.
- Vaillancourt, C.; Petit, A.; Bélisle, S. (1998). Expression of human placental D2-dopamine receptor during normal and abnormal pregnancies. *Placenta*, 19(1): 73–80.
- Vaillancourt, D.E.; Newell, K.M. (2002). Changing complexity in human behavior and physiology through aging and disease. *Neurobiol. Aging*, 23(1): 1–11.
- Valencia, N.A.; Thompson, D.L.; Mitcham, P.B. (2013). Changes in plasma melanocyte-stimulating hormone, ACTH, prolactin, GH, LH, FSH, and thyroid-stimulating hormone in response to injection of sulpiride, thyrotropin-releasing hormone, or vehicle in insulin-sensitive and -insensitive mares. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 44(4): 204–212.
- Van den Berghe, G.; de Zegher, F. (1996). Anterior pituitary function during critical illness and dopamine treatment. *Crit. Care Med.*, 24(9): 1580–1590.
- Van den Berghe, G.; de Zegher, F.; Lauwers, P. (1994a). Dopamine and the sick euthyroid syndrome in critical illness. *Clin. Endocrinol.*, 41(6): 731–737.
- Van den Berghe, G.; de Zegher, F.; Lauwers, P.; Veldhuis, J.D. (1994b). Growth hormone secretion in critical illness: effect of dopamine. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 79(4): 1141–1146.
- Van Loon, G.R.; Sole, M.J. (1980). Plasma dopamine: source, regulation, and significance. *Metabolism*, 29(11 Suppl. 1): 1119–1123.
- Vatten, L.J.; Nilsen, T.I.; Juul, A.; Jeansson, S.; Jenum, P.A.; Eskild, A. (2008). Changes in circulating level of IGF-I and IGF-binding protein-1 from the first to second trimester as predictors of preeclampsia. *Eur. J. Endocrinol.*, 158(1): 101–105.

- Veldhuis, J. (2008). Aging and hormones of the hypothalamo-pituitary axis: Gonadotropic axis in men and somatotropic axes in men and women. *Ageing Res. Rev.*, 7(3): 189-208.
- Veldhuis, J.D.; Frystyk, J.; Iranmanesh, A.; Ørskov, H. (2005). Testosterone and estradiol regulate free insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF binding protein 1 (IGFBP-1), and dimeric IGF-I/IGFBP-1 concentrations. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 90(5): 2941–2947.
- Veldhuis, J.D.; Kolp, L.A.; Toaff, M.E.; Strauss, J.F.; Demers, L.M. (1983). Mechanisms subserving the trophic actions of insulin on ovarian cells. In vitro studies using swine granulosa cells. *J. Clin. Invest.*, 72(3): 1046–1057.
- Veldhuis, J.D.; Roemmich, J.N.; Richmond, E.J.; Bowers, C.Y. (2006). Somatotropic and gonadotropic axes linkages in infancy, childhood, and the puberty-adult transition. *Endocr. Rev.*, 27(2): 101–140.
- Venero, J.L.; Absi, E.H.; Cano, J.; Machado, A. (2002). Melatonin induces tyrosine hydroxylase mRNA expression in the ventral mesencephalon but not in the hypothalamus. *J. Pineal Res.*, 32(1): 6–14.
- Vervuert, I.; Coenen, M.; Watermülder, E. (2005). Metabolic responses to oral tryptophan supplementation before exercise in horses. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 89(3-6): 140-145.
- Voros, G.; Maquoi, E.; Demeulemeester, D.; Clerx, N.; Collen, D.; Lijnen, H.R. (2005). Modulation of angiogenesis during adipose tissue development in murine models of obesity. *Endocrinology*, 146(10): 4545–4554.
- Vrachnis, N.; Kalampokas, E.; Sifakis, S.; Vitoratos, N.; Kalampokas, T.; Botsis, D.; Iliodromiti, Z. (2013). Placental growth factor (PlGF): a key to optimizing fetal growth. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.*, 26(10): 995–1002.
- Vrezas, I.; Willenberg, H.S.; Mansmann, G.; Hiroi, N.; Fritzen, R.; Bornstein, S.R. (2003). Ectopic adrenocorticotropin (ACTH) and corticotropin-releasing hormone (CRH) production in the adrenal gland: basic and clinical aspects. *Microsc. Res. Tech.*, 61(3): 308-314.
- Wadhwa, P.D.; Garite, T.J.; Porto, M.; Glynn, L.; Chicz-DeMet, A.; Dunkel-Schetter, C.; Sandman, C.A. (2004). Placental corticotropin-releasing hormone (CRH), spontaneous preterm birth, and fetal growth restriction: a prospective investigation. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 191(4): 1063-1069.
- Walker, B.R.; Best, R.; Noon, J.P.; Watt, G.C.; Webb, D.J. (1997). Seasonal variation in glucocorticoid activity in healthy men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 82(12): 4015–4019.
- Walker, J.J.; Spiga, F.; Gupta, R.; Zhao, Z.; Lightman, S.L.; Terry, J.R. (2015). Rapid intra-adrenal feedback regulation of glucocorticoid synthesis. *J. R. Soc. Interface*, 12(102): 20140875.
- Wallace, A.E.; Fraser, R.; Cartwright, J.E. (2012). Extravillous trophoblast and decidual natural killer cells: a remodelling partnership. *Hum. Reprod. Update*, 18(4): 458–471.
- Wallace, A.K. (1981). Gonadotropin responses and follicular development in the mare. Thesis. Louisiana State University, Baton Rouge.
- Walters, K.W.; Corbin, C.J.; Anderson, G.B.; Roser, J.F.; Conley, A.J. (2000). Tissue-specific localization of cytochrome P450 aromatase in the equine embryo by in situ hybridization and immunocytochemistry. *Biol. Reprod.*, 62(5): 1141–1145.
- Walther, D.J.; Peter J.U.; Bashammakh, S.; Hortnagl, H.; Voits, M.; Fink, H.; Bader, M. (2003). Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform. *Science*, 299(5603): 76.

- Wang, L.; Zhang, W.; Zhao, Y. (1999). The study of maternal and fetal plasma catecholamines levels during pregnancy and delivery. *J. Perinat. Med.*, 27(3): 195–198.
- Wang, S.Y.; Datta, S.; Segal, S. (2002). Pregnancy alters adrenergic mechanisms in uterine arterioles of rats. *Anesth. Analg.*, 94(5): 1304–1309.
- Warner, A.; Mayhew, I.G. (1983). Equine anhidrosis: a review of pathophysiologic mechanisms. *Vet. Res. Commun.*, 6(4): 249–264.
- Warren, W.B.; Gurewitsch, E.D.; Goland, R.S. (1995). Corticotropin-releasing hormone and pituitary-adrenal hormones in pregnancies complicated by chronic hypertension. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 172(2 Pt 1): 661–666.
- Watanabe, H.; Rose, M.T.; Aso, H. (2011). Role of peripheral serotonin in glucose and lipid metabolism. *Curr. Opin. Lipidol.*, 22(3): 186–191.
- Watanabe, H.; Saito, R.; Nakano, T.; Takahashi, H.; Takahashi, Y.; Sumiyoshi, K.; Sato, K.; Chen, X.; Okada, N.; Owasaki, S.; Harjanti, D.W.; Sekiguchi, N.; Sano, H.; Kitazawa, H.; Rose, M.T.; Ohwada, S.; Watanabe, K.; Aso, H. (2014). Effect of peripheral 5-HT on glucose and lipid metabolism in wether sheep. *Plos One*, 9(2): e88058.
- Watson, C.S.; Alyea, R.A.; Hawkins, B.E.; Thomas, M.L.; Cunningham, K.A.; Jakubas, A.A. (2006). Estradiol effects on the dopamine transporter-protein levels, subcellular location, and function. *J. Mol. Signal.*, 1: 5.
- Watson, E.D.; Bae, S.E.; Thomassen, R.; Thomson, S.R.; Woad, K.; Armstrong, D.G. (2004). Insulin-like growth factors-I and -II and insulin-like growth factor-binding protein-2 in dominant equine follicles during spring transition and the ovulatory season. *Reproduction*, 128(3): 321–329.
- Wedel Jones, C.; Mandala, M.; Barron, C.; Bernstein, I.; Osol, G. (2009). Mechanisms underlying maternal venous adaptation in pregnancy. *Reprod. Sci.*, 16(6): 596–604.
- Wee, J.; Charlton, C.; Simpson, H.; Jackson, N.C.; Shojaee-Moradie, F.; Stolinski, M.; Pentecost, C.; Umpleby, A.M. (2005). GH secretion in acute exercise may result in post-exercise lipolysis. *Growth Horm. IGF Res.*, 15(6): 397–404.
- Weihua, Z.; Ekman, J.; Almkvist, A.; Saji, S.; Wang, L.; Warner, M.; Gustafsson, J.A. (2002). Involvement of androgen receptor in 17beta-estradiol-induced cell proliferation in rat uterus. *Biol. Reprod.*, 67(2): 616–623.
- Weiss, E.R.; Maness, P.; Lauder, J.M. (1998). Why do neurotransmitters act like growth factors? *Perspect. Dev. Neurobiol.*, 5(4): 323–335.
- Weiss, R.; Abel, D.; Scholtysik, G.; Straub, R.; Mevissen, M. (2002). 5-Hydroxytryptamine mediated contractions in isolated preparations of equine ileum and pelvic flexure: pharmacological characterization of a new 5-HT (4) agonist. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 25(1): 49–58.
- Weissberger, A.J.; Ho, K.K.; Lazarus, L. (1991). Contrasting effects of oral and transdermal routes of estrogen replacement therapy on 24-hour growth hormone (GH) secretion, insulin-like growth factor I, and GH-binding protein in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 72(2): 374–381.
- Weitlauf, H.M. (1994). Biology of implantation. En: *The Physiology of Reproduction*. Knobil, E.; Neill, J. (eds). Vol 1, 2^a ed. New York: Raven Press, pp. 391–440.
- Weltman, A.; Pritzlaff, C.J.; Wideman, L.; Weltman, J.Y.; Blumer, J.L.; Abbott, R.D.; Hartman, M.L.; Veldhuis, J.D. (2000). Exercise-dependent growth hormone release is linked to markers of heightened

- central adrenergic outflow. *J. Appl. Physiol.*, 89(2): 629–635.
- Weng, Q.; Tanaka, Y.; Taniyama, H.; Tsunoda, N.; Nambo, Y.; Watanabe, G.; Taya, K. (2007). Immunolocalization of steroidogenic enzymes in equine fetal adrenal glands during mid-late gestation. *J. Reprod. Dev.*, 53(5): 1093–1098.
- Westermann, J.; Hubl, W.; Kaiser, N.; Salewski, L. (2002). Simple, rapid and sensitive determination of epinephrine and norepinephrine in urine and plasma by non-competitive enzyme immunoassay, compared with HPLC method. *Clin. Lab.*, 48(1-2): 61–71.
- Westwood, M.; Gibson, J.M.; Davies, A.J.; Young, R.J.; White, A. (1994). The phosphorylation pattern of insulin-like growth factor-binding protein-1 in normal plasma is different from that in amniotic fluid and changes during pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 79(6): 1735–1741.
- Whitlock, B.K.; Daniel, J.A.; Wilborn, R.R.; Elsasser, T.H.; Carroll, J.A.; Sartin, J.L. (2008). Comparative aspects of the endotoxin- and cytokine-induced endocrine cascade influencing neuroendocrine control of growth and reproduction in farm animals. *Reprod. Domest. Anim.*, 43(Suppl. 2): 317–323.
- Whitworth, J.A.; Williamson, P.M.; Mangos, G.; Kelly, J.J. (2005). Cardiovascular consequences of cortisol excess. *Vasc. Health Risk Manag.*, 1(4): 291–299.
- Wicherek, L.; Klimek, M.; Dutsch-Wicherek, M. (2005). The level of maternal immune tolerance and fetal maturity. *Neuro Endocrinol. Lett.*, 26(5): 561–566.
- Widman, C. (2010). Effect of diet on cortisol concentrations in response to feeding stress in horses. Honors research thesis. Department of Animal Sciences. The Ohio State University.
- Wikoff, W.R.; Anfora, A.T.; Liu, J.; Schultz, P.G.; Lesley, S.A.; Peters, E.C.; Siuzdak, G. (2009). Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 106(10): 3698–3703.
- Williams, R.J.; Marlin, D.J.; Smith, N.; Harris, R.C.; Haresign, W.; Davies Morel, M.C. (2002). Effects of cool and hot humid environmental conditions on neuroendocrine responses of horses to treadmill exercise. *Vet. J.*, 164(1): 54–63.
- Willmann, C.; Budik, S.; Walter, I.; Aurich, C. (2011). Influences of treatment of early pregnant mares with the progestin altrenogest on embryonic development and gene expression in the endometrium and conceptus. *Theriogenology*, 76(12): 61–73.
- Wilsher, S.; Allen, W.R. (2012). Factors influencing placental development and function in the mare. *Equine Vet. J. Suppl.*, 41: 113–119.
- Wilson, D.C.; Corbett, A.D.; Steel, C.; Pannirselvam, R.; Bovell, D.L. (2007). A preliminary study of the short circuit current (I_{sc}) responses of sweat gland cells from normal and anhidrotic horses to purinergic and adrenergic agonists. *Vet. Dermatol.*, 18(3): 152–160.
- Winger, Q.A.; de los Rios, P.; Han, V.K.; Armstrong, D.T.; Hill, D.J.; Watson, A.J. (1997). Bovine oviductal and embryonic insulin-like growth factor binding proteins: possible regulators of “embryotrophic” insulin-like growth factor circuits. *Biol. Reprod.*, 56(6): 1415–1423.
- Wirz-Justice, A.; Lichtsteiner, M.; Feer, H. (1977). Diurnal and seasonal variations in human platelet serotonin in man. *J. Neural Transm.*, 41(1): 7–15.
- Wood, C.E.; Keller-Wood, M. (1991). Induction of parturition by cortisol: effects on negative feedback sensitivity and plasma CRF. *J. Dev. Physiol.*, 16(5): 287–292.
- Wu, G.D.; Chen, J.; Hoffmann, C.; Bittinger, K.; Chen, Y.Y.; Keilbaugh, S.A.; Bewtra, M.; Knights, D.; Walters, W.A.; Knight, R.;

- Sinha, R.; Gilroy, E.; Gupta, K.; Baldassano, R.; Nessel, L.; Li, H.; Bushman, F.D.; Lewis, J.D. (2011). Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, 334(6052): 105–108.
- Xu, J.; Li, M.; Zhang, L.; Xiong, H.; Lai, L.; Guo, M.; Zong, T.; Zhang, D.; Yang, B.; Wu, L.; Tang, M.; Kuang, H. (2015). Expression and regulation of androgen receptor in the mouse uterus during early pregnancy and decidualization. *Mol. Reprod. Dev.*, 82(11): 898–906.
- Yadav, V.K.; Oury, F.; Suda, N.; Liu, Z.W.; Gao, X.B.; Confavreux, C.; Klemenhagen, K.C.; Tanaka, K.F.; Gingrich, J.A.; Guo, X.E.; Tecott, L.H.; Mann, J.J.; Hen, R.; Horvath, T.L.; Karsenty, G. (2009). A serotonin-independent mechanism explains the leptin regulation of bone mass, appetite, and energy expenditure. *Cell*, 138(5): 976–989.
- Yadav, V.K.; Ryu, J.H.; Suda, N.; Tanaka, K.F.; Gingrich, J.A.; Schütz, G.; Glorieu, F.H.; Chiang, C.Y.; Zajac, J.D.; Insogna, K.L.; Mann, J.J.; Hen, R.; Ducy, P.; Karsenty, G. (2008). Lrp5 controls bone formation by inhibiting serotonin synthesis in the duodenum. *Cell*, 135(5): 825–837.
- Yamada, J.; Sugimoto, Y.; Yoshikawa, T.; Kimura, I.; Horisaka, K. (1995). The involvement of the peripheral 5-HT_{2A} receptor in peripherally administered serotonin-induced hyperglycemia in rats. *Life Sci.*, 57(8): 819–825.
- Yang, F.; Johnson, B.J.; White, M.E.; Hathaway, M.R. (1999). Effect of insulin-like growth factor (IGF-I) and Des (1-3) IGF-I on the level of IGF binding protein-3 and IGF binding protein mRNA in cultured porcine embryonic muscle cells. *J. Cell. Physiol.*, 178(2): 227–234.
- Yang, M.J.; Tseng, J.Y.; Chen, C.Y.; Yeh, C.C. (2013). Changes in maternal serum insulin-like growth factor-I during pregnancy and its relationship to maternal anthropometry. *J. Chin. Med. Assoc.*, 76(11): 635–639.
- Yano, K. (2006). Vascular endothelial growth factor is an important determinant of sepsis morbidity and mortality. *J. Exp. Med.*, 203(6): 1447–1458.
- Yano, K.; Okada, Y.; Beldi, G.; Shih, S.C.; Bodyak, N.; Okada, H.; Hang, P.M.; Luscinskas, W.; Robson, S.C.; Carmeliet, P.; Karumanchi, S.A.; Aird, W.C. (2008). Elevated levels of placental growth factor represent an adaptive host response in sepsis. *J. Exp. Med.*, 205(11): 2623–2631.
- Yao, Y.G.; Yang, H.S.; Cao, Z.; Danielsson, J.; Duh, E.J. (2005). Upregulation of placental growth factor by vascular endothelial growth factor via a post-transcriptional mechanism. *FEBS Lett.*, 579(5): 1227–1234.
- Yen, S.S.C. (1991). Endocrine metabolic adaptations in pregnancy. En: *Reproductive endocrinology, physiology, pathophysiology and clinical management*. Yen, S.S.C.; Jaffe, R.B. (eds). W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 441–499.
- Yonekura, H.; Sakurai, S.; Liu, X.; Migita, H.; Wang, H.; Yamagishi, S.; Nomura, M.; Abedin, M.J.; Unoki, H.; Yamamoto, Y.; Yamamoto, H. (1999). Placenta growth factor and vascular endothelial growth factor B and C expression in microvascular endothelial cells and pericytes. Implication in autocrine and paracrine regulation of angiogenesis. *J. Biol. Chem.*, 274(49): 35172–35178.
- Young, J.B.; Landsberg, L. (1998). Catecholamines and the adrenal medulla. En: *Wilson, J.D.; Foster, D.W.; Kronenberg, H.M.; Larsen, P.R. (eds.). Williams Textbook of Endocrinology*. Saunders Company, Philadelphia, pp. 665–728.
- Zanardo, V.; Simbi, A.K.; Franzoi, M.; Soldà, G.; Salvadori, A.; Trevisanuto, D. (2004). Neonatal respiratory morbidity risk and mode of delivery at term: influence of timing of elective caesarean delivery. *Acta Paediatr.*, 93(5): 643–647.
- Zeitlin, J.; Saurel-Cubizolles, M.J.; DeMouzon, J.; Rivera, L.; Ancel, P.Y.;

Blondel, B.; Kaminski, M. (2002). Fetal sex and preterm birth: are males at greater risk? *Hum. Reprod.*, 17(10): 2762–2768.

Zeng, C.; Zhang, M.; Asico, L.D.; Eisner, G.M.; Jose, P.A. (2007). The dopaminergic system in hypertension. *Clin. Sci. (Lond.)*, 112(12): 583–597.

Zhao, W.; Zhao, L.; Zhao, W. (1999). Determination of plasma serotonin level in patients with pregnancy induced hypertension. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 34(7): 406–408.

Zhou, Q.J.; Quaife, C.J.; Palminter, R.D. (1995). Targeted disruption of the tyrosine hydroxylase gene reveals that catecholamines are required for mouse fetal development. *Nature*, 374(6523): 640-643.

Zhu, Y.; Zhang, W.; Chen, M.; Liu, N.; Guo, J. (2002). Study on expression of norepinephrine and dopamine placental tissues of normal pregnancy and pregnancy induced hypertension syndrome. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 37(3): 142–145.

Ziche, M.; Maglione, D.; Ribatti, D.; Morbidelli, L.; Lago, C.T.; Battisti, M.; oletti, I.; Barra, A.; Tucci, M.; Parise, G.; Vincenti, V.; Granger, H.J.; Viglietto, G.; Persico, M.G. (1997). Placenta growth factor-1 is chemotactic, mitogenic, and angiogenic. *Lab. Invest.*, 76(4): 517–531.

Zisapel, N. (2001). Melatonin-dopamine interactions: from basic neurochemistry to a clinical setting. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 21(6): 605–616.

Zofkova, I. (2003). Pathophysiological and clinical importance of insulin-like growth factor I with respect to bone metabolism. *Physiol. Res.*, 52(6): 657-579.

Zofkova, I.; Matucha, P. (2014). New insights into the physiology of bone regulation: the role of neurohormones. *Physiol. Res.*, 63(4): 421-427.

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

10. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

10.1.-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	89
TABLA 2.- Estadísticos descriptivos de los diversos neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE	98
TABLA 3.- Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el primer mes de gestación	99
TABLA 4.- Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el segundo mes de gestación.....	99
TABLA 5.- Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el tercer mes de gestación	100
TABLA 6.- Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el cuarto mes de gestación	100
TABLA 7.- Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el quinto mes de gestación	101
TABLA 8.- Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el sexto mes de gestación	101
TABLA 9.- Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el séptimo mes de gestación	102

TABLA 10.- Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el octavo mes de gestación	102
TABLA 11.- Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el noveno mes de gestación	103
TABLA 12.- Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el décimo mes de gestación	103
TABLA 13.- Estadísticos descriptivos de los neurotransmisores, hormonas hipofisarias, placentarias, adrenales, y factores de crecimiento en las 33 yeguas PRE durante el décimo primer mes de gestación.....	104
TABLA 14.- Coeficientes de correlación entre los diversos parámetros hormonales y factores de crecimiento analizados en las 33 yeguas PRE	117

10.2. ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.- Valores medios \pm DS de adrenalina y noradrenalina a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE.....	105
FIGURA 2.- Valores medios \pm DS de las concentraciones de serotonina a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE.....	106
FIGURA 3.- Valores medios \pm DS de las concentraciones de dopamina a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE.....	107
FIGURA 4.- Valores medios \pm DS de las concentraciones de hormona adrenocorticotropa y cortisol a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE.....	108
FIGURA 5.- Valores medios \pm DS de las concentraciones de hormona del crecimiento a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE	109
FIGURA 6.- Valores medios \pm DS de las concentraciones del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE.....	110

FIGURA 7.- Valores medios \pm DS de las concentraciones de androstenediona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE.....	111
FIGURA 8.- Valores medios \pm DS de las concentraciones de dehidroepiandrosterona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE	112
FIGURA 9.- Valores medios \pm DS de las concentraciones de testosterona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE.....	113
FIGURA 10.- Valores medios \pm DS de las concentraciones de sulfato de estrona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE.....	114
FIGURA 11.- Valores medios \pm DS de las concentraciones de progesterona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE.....	115
FIGURA 12.- Valores medios \pm DS de las concentraciones de factor de crecimiento placentario a lo largo de los 11 meses de gestación en las 33 yeguas PRE.....	116

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

11. ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- 11 β -HSD: 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa
- 5-DHP: 5-dihidroprogesterona
- 5-HT: serotonina
- 5-HTP: 5-hidroxitriptófano
- A₄: androstenodiona
- ACTH: hormona corticotropa
- ADR: adrenalina
- AINE: antiinflamatorio no esteroideo
- AMP_c: adenosin monofosfato cíclico
- ARN: ácido ribonucleico
- ARNm: ARN mensajero
- AVP: arginina vasopresina
- BCAA: aminoácido ramificado (branched-chain amino acid)
- BH₂: dihidrobiopterina
- BH₄: tetrahidrobiopterina
- CBG: globulina transportadora de cortisol (o transcortina)
- CL: cuerpo lúteo
- CLIP: péptido intermedio similar a la corticotrofina
- CORT: cortisol
- CRH: hormona liberadora de corticotropina
- CRH-R1: receptor tipo 1 de la hormona liberadora de corticotropina
- DA: dopamina
- DBH: DA β -hidroxilasa
- DHA: dihidroandrosterona
- DHEA: dehidroepiandrosterona
- DHP: dihidroprogesterona
- DHT: dihidrotestosterona
- DOPA: 3,4-hidroxifenilalanina
- E₁: estrona
- E₁S: sulfato de estrona

- E₂: estradiol
- eCG: gonadotropina coriónica equina
- EGF: factor de crecimiento epidérmico
- EPO: eritropoyetina
- FGF: factor de crecimiento fibroblástico
- Flt-1: fms-like-tyrosine-kinase receptor 1
- FSH: hormona folículo-estimulante
- FSHr: receptores para la FSH
- GABA: ácido gamma-aminobutírico
- GH: hormona de crecimiento
- GHBP: proteínas transportadoras de la hormona del crecimiento
- GHp: hormona del crecimiento placentaria
- GHRH: factor hipotalámico liberador de la hormona del crecimiento
- GI: gastrointestinal
- GIP: péptido inhibidor gástrico
- GnRH: factor hipotalámico liberador de gonadotropinas
- GR: receptor de glucocorticoides
- HA: hipofisario-adrenal
- hCG: gonadotropina coriónica humana
- HHA: hipotalámico-hipofisario-adrenal
- HMGCR: 3-hidroxi-3metil-glutaril-CoA reductasa
- HPLC: cromatografía líquida de alto rendimiento
- HSD: enzima hidroxisteroide deshidrogenasa
- HT2B: receptor de 5-HT de origen intestinal
- IDO: indoleamina 2,3-dioxigenasa
- IGF-1: factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1
- IGFBP: proteína transportadora del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1
- LDL: lipoproteína de baja densidad
- LH: hormona luteinizante
- LH-RH: hormona liberadora de la hormona luteinizante
- MAO: enzima monoamino oxidasa
- MCR: receptor de melanocortina

- MCR-2: receptor de melanocortina tipo 2
- MR: receptor de mineralocorticoides
- MSH: hormona estimulante de melanocitos
- NEFA: ácidos grasos no esterificados
- NO: óxido nítrico
- NORADR: noradrenalina
- P₄: progesterona
- P450_{17α}: enzima 17α-hidroxilasa
- P450arom: enzima aromatasa
- P₅: pregnenolona
- PAN: péptido atrial natriurético
- PCOS: síndrome de ovario poliquístico
- PG: prostaglandina
- PGE₂: prostaglandina E₂
- PGF_{2α}: prostaglandina F_{2α}
- PlGF: factor de crecimiento placentario
- PNMT: feniletanolamina N-metiltransferasa
- POMC: propionilmelanocortina
- PRá: Pura Sangre árabe
- PRL: prolactina
- PSI: Pura Sangre Inglés
- PTH: hormona paratiroidea
- ROS: radicales libres de oxígeno
- SA: simpático-adrenal
- SERT: proteína de membrana transportadora de serotonina
- SHBG: globulina de unión a hormonas sexuales
- SIRS: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica
- SNC: sistema nervioso central
- SNS: sistema nervioso simpático
- SRAA: sistema renina-angiotensina-aldosterona
- SRIF: factor inhibidor de liberación de somatotropina (o somatostatina)
- StAR: proteína reguladora de la respuesta esteroideal aguda

- T: testosterona
- TCG: tumor de células de la granulosa
- TFG: tasa de filtración glomerular
- TGF β -1: factor de crecimiento transformante β -1
- TH: enzima tirosina hidroxilasa
- TNF: factor de necrosis tumoral
- TPH: enzima triptófano hidroxilasa
- TRH: hormona liberadora de tirotrópina
- TSH: tirotrópina
- VEGF: factor de crecimiento del endotelio vascular
- VEGF-A: factor de crecimiento del endotelio vascular tipo A
- VEGFR: receptor del VEGF
- VEGFR-1: receptor 1 del VEGF o Flt-1 (fms-like-tyrosine-kinase receptor 1)
- VEGFR-2: receptor 2 del VEGF
- VIP: péptido intestinal vasoactivo
- β -END: péptidos β relacionados a endorfinas
- β -HSD: enzima β hidroxiesteroide deshidrogenasa

