



**CEU**

*Universidad  
Cardenal Herrera*

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

**ACTUACIÓN DEL EJE RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA Y HORMONAS DE  
LA REPRODUCCIÓN EN YEGUAS PRE DURANTE LA GESTACIÓN**

TESIS DOCTORAL

Rosana Domingo Ortiz

Valencia 2008

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

**INFORMA**

Que la Tesis Doctoral titulada “**ACTUACIÓN DEL EJE RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA Y HORMONAS DE LA REPRODUCCIÓN EN YEGUAS PRE DURANTE LA GESTACIÓN**” del que es autora Doña Rosana Domingo Ortiz, Licenciada en Veterinaria, ha sido realizada bajo mi dirección, en el Departamento de Medicina y Cirugía Animal en el marco del Programa de Doctorado de Ciencias de la Salud, y reúne las condiciones científicas y formales para ser presentada ante el tribunal correspondiente a fin de obtener el Grado de Doctor.

Y para que conste, firmo el presente en Moncada (Valencia), a 25 de Enero de 2008.

Fdo. Katiuska Satué Ambrojo

*“A mis dos amores,  
que son la luz que ilumina mis días”*

En primer lugar, agradecer a los ganaderos D. Francisco Ballester, D. Francisco Tarazón, D. Rafael Cervera y D. Rafael Martínez Suay, quienes desinteresadamente nos cedieron las yeguas para la realización de este estudio.

Agradecer a mi familia, todo el cariño y cuidados hacia mi hijo, que me han permitido disponer del tiempo necesario para dedicarlo al trabajo.

Dar las gracias a la persona más importante en la idea y elaboración del trabajo, Katy, mi directora de Tesis. Gracias por tu constancia y saber hacer, por tu apoyo y ánimo constante y sobretodo, por tu gran valía profesional y personal.

Muchísimas gracias también a los alumnos, algunos ya hoy compañeros veterinarios, y otros casi, que siempre estuvieron dispuestos a colaborar en el trabajo de campo y muy en especial a Rebeca.

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

Agradezco al Profesor Doctor D. Vicente Rodilla Alama el asesoramiento en el análisis estadístico de los datos.

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

<b>1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS .....</b>	<b>1</b>
1.1.-INTRODUCCIÓN .....	1
1.2.-OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN .....	5
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1.-PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1.1.-VALOR HEMATÓCRITO.....</b>	<b>6</b>
2.1.1.1.-Manejo de la muestra.....	7
2.1.1.2.-Precisión de las determinaciones .....	7
2.1.1.3.-Actitud y grado de excitación .....	7
2.1.1.4.-Lugar de venipunción.....	8
2.1.1.5.-Alimentación.....	8
2.1.1.6.-Ritmos biológicos de tipo circadiano.....	9
2.1.1.7.-Sexo .....	9
2.1.1.8.-Estación del año.....	9
2.1.1.9.-Altitud .....	10
2.1.1.10.-Raza .....	10
2.1.1.11.-Ejercicio.....	10
2.1.1.12.-Entrenamiento .....	11
2.1.1.13.-Administración de tranquilizantes .....	11
2.1.1.14.-Edad .....	12
2.1.1.15.-Estado fisiológico .....	13
<b>2.1.2.-PARÁMETROS BIOQUÍMICOS .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1.2.1.-PROTEÍNAS PLASMÁTICAS EN EL CABALLO.....</b>	<b>15</b>
2.1.2.1.1.-Influencia hormonal y sexual .....	16
2.1.2.1.2.-Influencias de tipo nutricional.....	16
2.1.2.1.3.-Estrés y pérdida de fluidos.....	17
2.1.2.1.4.-Ejercicio.....	17
2.1.2.1.5.-Edad .....	18
2.1.2.1.6.-Estado fisiológico .....	19
<b>2.1.2.2.-ELECTROLITOS PLASMÁTICOS EN EL CABALLO (SODIO, POTASIO Y CLORO)20</b>	
2.1.2.2.1.-Sodio .....	20
2.1.2.2.1.1.-Evolución de la natremia durante la gestación .....	20
2.1.2.2.2.-Potasio .....	23
2.1.2.2.2.1.-Evolución de la caemia durante la gestación.....	23
2.1.2.2.3.-Cloro.....	24
2.1.2.2.3.1.-Evolución de la cloremia durante la gestación .....	24
2.1.2.2.4.-Influencia de la edad sobre la concentración plasmática de electrolitos.....	25
<b>2.2.-PARÁMETROS HORMONALES.....</b>	<b>26</b>
<b>2.2.1.-SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA.....</b>	<b>26</b>

2.2.1.1.-Componentes del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona .....	26
<b>2.2.1.1.1.-RENINA .....</b>	<b>26</b>
2.2.1.1.2.-Angiotensinógeno .....	28
2.2.1.1.3.-Angiotensina I .....	29
2.2.1.1.4.-Enzima convertidora de Angiotensina (ECA).....	29
<b>2.2.1.1.5.-ANGIOTENSINA II.....</b>	<b>31</b>
2.2.1.1.5.1.-Efectos fisiológicos de la Angiotensina II.....	33
2.2.1.1.5.1.1.-A nivel renal .....	33
2.2.1.1.5.1.2.-A nivel de la corteza adrenal.....	34
2.2.1.1.5.1.3.-Efectos vasculares sistémicos .....	34
2.2.1.1.5.1.4.-A nivel cardiaco.....	35
2.2.1.1.5.1.5.-A nivel cerebral .....	35
2.2.1.1.5.1.6.-Sistema Nervioso .....	36
2.2.1.1.5.1.7.-Piel .....	36
<b>2.2.1.1.6.-ALDOSTERONA .....</b>	<b>36</b>
2.2.1.1.6.1.-Efectos fisiológicos de la aldosterona.....	38
2.2.1.1.6.1.1.-A nivel renal y circulatorio .....	38
2.2.1.1.6.1.2.-Glándulas sudoríparas y salivales .....	40
2.2.1.1.6.1.3.-Absorción intestinal.....	40
2.2.1.2.-Actividad del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona durante la gestación .....	41
2.2.1.2.1.-Prorenina.....	41
2.2.1.2.2.-Renina .....	42
2.2.1.2.3.-Angiotensinógeno .....	45
2.2.1.2.4.-ECA.....	46
2.2.1.2.5.-Angiotensina II .....	46
2.2.1.2.6.-Angiotensina (1-7).....	48
2.2.1.2.7.-Aldosterona.....	48
2.2.1.3.-Influencia de la edad sobre los componentes del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona .....	51
<b>2.2.2.-CORTISOL.....</b>	<b>51</b>
2.2.2.1.-Efectos fisiológicos del cortisol .....	52
2.2.2.1.1.-Metabolismo .....	52
2.2.2.1.1.1.-Metabolismo de los carbohidratos .....	52
2.2.2.1.1.2.-Metabolismo proteico .....	53
2.2.2.1.1.3.-Metabolismo lipídico.....	54
2.2.2.1.2.-Sistema endocrino .....	55
2.2.2.1.3.-Sistema musculoesquelético .....	55
2.2.2.1.4.-Piel y tejido conectivo.....	55
2.2.2.1.5.-Sistema cardiovascular .....	56
2.2.2.1.6.-Sistema renal .....	56

2.2.2.1.7.-Hematopoyesis y sistema inmunitario .....	57
2.2.2.2.-Evolución de la cortisolemia durante la gestación .....	58
2.2.2.3.-Influencia de la edad sobre la cortisolemia.....	59
<b>2.3.-BASES ENDOCRINOLÓGICAS DE LA GESTACIÓN EN LA YEGUA.....</b>	<b>60</b>
2.3.1.-Reconocimiento maternal de la gestación (RMG) en la yegua .....	60
2.3.2.-Embriogénesis y desarrollo de las membranas fetales .....	61
2.3.3.-Formación de los cálices endometriales.....	61
2.3.4.-Dinámica endocrinológica durante la gestación: Progesterona y estrógenos.....	62
2.3.4.1.- <b>PROGESTERONA</b> .....	<b>62</b>
2.3.4.2.- <b>ESTRÓGENOS</b> .....	<b>65</b>
<b>3.-<u>MATERIAL Y MÉTODOS</u>.....</b>	<b>68</b>
3.1.-Centro de realización .....	68
3.2.-Material animal.....	68
3.2.1.-Descripción general de los animales .....	68
3.2.2.-Condiciones de cría y alimentación .....	71
3.2.3.-Manejo reproductivo de las yeguas .....	73
3.3.-Obtención y preparación de las muestras sanguíneas.....	74
3.3.1.-Procedimiento de extracción, manipulación y conservación de las muestras sanguíneas.....	74
3.3.2.-Análisis laboratorial .....	75
3.3.2.1.-Análisis hematológico y bioquímico .....	75
3.3.2.2.-Análisis hormonal.....	75
3.4.-Análisis estadístico.....	77
<b>4.-<u>RESULTADOS</u>.....</b>	<b>79</b>
<b>4.1.-PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE GESTANTE.....</b>	<b>80</b>
<b>4.2.-EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DURANTE LA GESTACIÓN EN LA YEGUA PRE .....</b>	<b>81</b>
<b>4.3.-INFLUENCIA DE LA EDAD SOBRE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES EN LA YEGUA PRE .....</b>	<b>94</b>
<b>4.4.-CORRELACIONES ENTRE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES EN LA YEGUA PRE. ....</b>	<b>97</b>
<b>5.-<u>DISCUSIÓN</u>.....</b>	<b>99</b>
<b>5.1.-PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE GESTANTE.....</b>	<b>99</b>
5.1.1.-Parámetros hematológicos y bioquímicos de referencia .....	99
5.1.1.1.-Valor hematocrito .....	99
5.1.1.2.-Concentración de proteínas plasmáticas totales .....	103

5.1.1.3.-Concentración plasmática de electrolitos .....	104
5.1.1.3.1.-Sodio .....	104
5.1.1.3.2.-Potasio .....	104
5.1.1.3.3.-Cloro.....	105
5.1.2.-Parámetros hormonales de referencia en la yegua PRE .....	106
5.1.2.1.-Renina.....	106
5.1.2.2.-Angiotensina II .....	107
5.1.2.3.-Aldosterona .....	107
5.1.2.4.-Cortisol .....	109
5.1.2.5.-Progesterona y sulfato de estrona .....	110
<b>5.2.-EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DURANTE LA GESTACIÓN EN LA YEGUA PRE .....</b>	<b>110</b>
5.2.1.-Parámetros hematológicos y bioquímicos durante la gestación.....	111
5.2.1.1.-Valor hematocrito .....	111
5.2.1.2.-Concentración de proteínas plasmáticas totales .....	114
5.2.1.3.-Concentración plasmática de electrolitos .....	115
5.2.1.3.1.-Sodio .....	115
5.2.1.3.2.-Potasio .....	116
5.2.1.3.3.-Cloro.....	117
5.2.2.-Parámetros hormonales durante la gestación .....	118
5.2.2.1.-Renina.....	118
5.2.2.2.-Angiotensina II .....	119
5.2.2.3.-Aldosterona .....	120
5.2.2.4.-Cortisol .....	123
5.2.2.5.-Progesterona y sulfato de estrona .....	126
5.2.2.5.1.-Progesterona.....	126
5.2.2.5.2.-Sulfato de estrona .....	128
<b>5.3.-INFLUENCIA DE LA EDAD SOBRE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES EN LA YEGUA PRE .....</b>	<b>129</b>
5.3.1.-Parámetros hematológicos y bioquímicos .....	130
5.3.1.1.-Valor hematocrito .....	130
5.3.1.2.-Concentración de proteínas plasmáticas totales .....	130
5.3.1.3.-Concentración plasmática de electrolitos .....	131
5.3.2.-Parámetros hormonales.....	132
5.3.2.1.-Renina.....	132
5.3.2.2.-Angiotensina II .....	133
5.3.2.3.-Aldosterona .....	134
5.3.2.4.-Cortisol .....	134



5.3.2.5.-Progesterona y sulfato de estrona .....	135
<b>6.-<u>CONCLUSIONES</u></b> .....	<b>137</b>
<b>7.-<u>BENEFICIOS DERIVADOS DE LA INVESTIGACIÓN</u></b> .....	<b>139</b>
<b>8.-<u>RESUMEN</u></b> .....	<b>141</b>
<b>9.-<u>SUMMARY</u></b> .....	<b>143</b>
<b>10.-<u>ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS</u></b> .....	<b>145</b>
10.1.-ÍNDICE DE TABLAS .....	145
10.2.-ÍNDICE DE FIGURAS .....	146
<b>11.-<u>BIBLIOGRAFÍA</u></b> .....	<b>148</b>

## **1.-INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS**

### **1.1.-INTRODUCCIÓN**

La gestación es un estado fisiológico que implica una serie de ajustes de tipo cardiovascular y metabólico, cuyo objetivo es garantizar un aporte energético constante al feto en crecimiento (Butte, 2000). En este sentido, los componentes del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona (SRAA) a nivel renal, cardiovascular y endocrinológico, participan directamente sobre el control de la excreción de sodio, la homeostasis interna y la presión arterial. Así, la integración de dichos componentes aseguran el intercambio adecuado de oxígeno y nutrientes entre la madre y el feto, influyendo notablemente sobre el peso del neonato al nacimiento y la viabilidad fetal (Dandrea y cols., 2002; Beauséjour y cols., 2003; Krämer, 2004).

Los cambios que acontecen en el SRAA en gestaciones normales y toxémicas fueron descritos por primera vez por Page en el año 1947 en medicina humana. A partir de este momento, los trabajos de investigación publicados sobre la evolución que experimenta dicho sistema durante la gestación, en la mujer (Brown y cols., 1966; Symonds y cols., 1970; Katz y cols., 1973; Godard y cols., 1976; Bay y Ferris, 1979; Symonds, 1981; Hsueh y cols., 1982; Carr y cols., 1983; Tetlow y Broughton Pipkin, 1983; Alhenc-Gelas y cols., 1986; August y cols., 1990; Wu y cols., 1991; Langer y cols., 1998; Valdés y cols., 2001; Jensen y cols., 2002; Heenan y cols., 2003; Brosnihan y cols., 2004; Al Kadi y cols., 2005; Serreau y cols., 2005; Zheng y cols., 2005) y determinadas especies animales, como vacuno (Hagemann y cols., 1993; Schauser y cols., 2001), ovino (Broughton Pipkin y cols., 1974; Ueda y cols., 1986; Forhead y cols., 1997; 2000; Dandrea y cols., 2002; Gibson y cols., 2006), caprino (Skotnicka, 2003), felino (Rubattu y cols., 1991; Salas y cols., 2003), suidos (Hagemann y cols., 1993), y animales de experimentación (Sheehan y cols., 1983; Valenzuela y Longo, 1985; Garland y cols., 1987; Salas y cols., 2003; Bédard y cols., 2004; Armitage y cols., 2005; Khraibi y cols., 2005; Takimoto-Ohnishi y cols., 2005; Morgan y cols., 2006; St-Louis y cols., 2006; Yu y Khraibi, 2006) han sido muy numerosos. Estos trabajos ponen de manifiesto un incremento de la actividad del SRAA a lo largo de la gestación. A pesar de ello, la bibliografía referente a la actuación del SRAA durante la preñez en la yegua es escasa y dispersa, considerando de forma aislada determinados periodos dentro del ciclo reproductor (Broughton Pipkin y cols., 1982; Broughton Pipkin, 1984; Forhead y cols., 2000). Una cuestión interesante a resaltar, es la inexistencia hasta el momento de valores

de referencia para los componentes del SRAA durante la gestación en la yegua. Este estudio experimental representa el primer examen laboratorial sobre la dinámica de dichos componentes en équidos y más concretamente en la yegua PRE a lo largo de la gestación.

De forma temprana, durante la gestación, se produce una reducción del tono vascular sistémico, debido principalmente al aumento del volumen sanguíneo y a la disminución de la osmolaridad plasmática (Pivarnik y cols., 1990; Duvekot y cols., 1993; August y cols., 1995; Takeda-Matsubara y cols., 2004; Al Kadi y cols., 2005). Estos acontecimientos se han mostrado en la mujer (Moutquin y cols., 1982; Bird y cols., 1997; Granger, 2002; Auger y cols., 2004) y en determinadas especies animales de experimentación (Berssenbrugge y cols., 1980; St-Louis y Massicotte, 1985; Lindheimer y Katz, 1992; Poston y cols., 1995; St-Louis y cols., 2006).

El declive de la presión arterial conduce de forma compensatoria a un incremento de los mecanismos de restauración del volumen sanguíneo (Robson y cols., 1989), elevándose de forma simultánea la concentración de renina (Wilson y cols., 1980; Duvekot y cols., 1993) y angiotensina II (Pedersen y cols., 1985; Dandrea y cols., 2002; Conrad, 2004). La angiotensina II circulante, por una parte estimula la liberación de aldosterona (Greenland y Sernia, 2004; Stachenfeld y Taylor, 2004) y por otra, la síntesis de hormona antidiurética (ADH), conduciendo a la retención de electrolitos y agua (Cunningham, 2003).

No se conoce con exactitud si estos cambios acontecidos en el SRAA son primarios y por tanto, la causa del incremento del volumen plasmático, o secundarios a la vasodilatación y a las modificaciones en la presión sanguínea. En la actualidad, el motivo del aumento de la actividad del SRAA durante la gestación permanece aún desconocido. De hecho, no se sabe si la hiperactividad del SRAA tiene una función beneficiosa o simplemente es una vía pasiva a otros cambios adaptativos. Sin embargo, la finalidad de estas modificaciones incluye la expansión del volumen plasmático, necesario para acomodar el aumento del contenido uterino, incrementar la biodisponibilidad de nutrientes al feto y eliminar los productos de desecho fetales. Asimismo, conforma los requerimientos circulatorios renales maternos necesarios durante el ciclo reproductor (Cerdá y Pereyra, 1987; Mattison y cols., 1991; Sibai y Frangieh, 1995).

De esta forma, la gestación se asocia a un estado de sobrecarga crónica, en la cual la hipervolemia es el resultado de la retención primaria de sodio y agua inducida por la activación del SRAA (Longo, 1983; Cunningham, 2003). El grado de expansión del volumen plasmático derivado de la preñez es variable, habiéndose descrito porcentajes

del 23 % en ovinos (Jain, 1993), 25% (Botella y Clavero, 1974; Wintrobe, 1974; West, 1990) y 45-55% (Hyttén y Paintin, 1963; Brody y Spitz, 1967; Longo, 1983; Pivarnik y cols., 1990; Duvekot y Peeters, 1994; McKnight y cols., 1994; Burrow y Ferris, 1995; Jovanovic-Peterson y Peterson, 1995; Descamps y cols., 2000) e incluso 150% en mujeres gestantes a término (Hyttén y Paintin, 1963; Pirani y cols., 1973) y 25% en ratas (Baylis y Munger, 1990; Verkeste y cols., 1998).

Como consecuencia de la expansión del volumen plasmático, se produce una disminución de los valores eritrocitarios a lo largo de la gestación (Botella y Clavero, 1974; Hyttén, 1985; West, 1990; Brown y cols., 1992; Baylis, 1994; Descamps y cols., 2000; Ross e Idah, 2004). Este tipo de respuesta fisiológica también ha sido mostrada en numerosas especies animales, como elefantes hembra (Ratnassooriya y cols., 1993), perras (Allard y cols., 1989), ovejas de diferentes razas (Del Valle y cols., 1983; Ramos y cols., 1992; Jain, 1993; González y cols., 1994), cabras (Fortagne y Schafer, 1989; Mbassa y Poulsen, 1991) y primates (Suzuki y cols., 1996; Harewood y cols., 2000). Este estado de anemia fisiológica latente se hace patente hacia el término de la gestación, a pesar del aumento de la concentración de eritropoyetina, posiblemente derivado de la secreción de prolactina placentaria y otras hormonas (Hyttén y Leitch, 1971; McMullin y cols., 2003). En la yegua, las investigaciones destinadas a evaluar las modificaciones hematológicas derivadas de la gestación han arrojado resultados contradictorios. Mientras que algunos trabajos describieron una disminución de los parámetros eritrocitarios y de la concentración de proteínas plasmáticas (Trum, 1951; Jain, 1993; Harvey y cols., 1994), otros mostraron un incremento de los mismos durante este periodo (Hansen y cols., 1950, a, b; Hansen y Tood, 1951; Mason y Kwok, 1977; Berlink y cols., 2000). A pesar de ello, Plaschka y cols. (1996) no evidenciaron modificaciones apreciables en la eritrocitemia. Tampoco Satué (2004) observó variaciones significativas en la proteinemia a lo largo de la preñez.

Las adaptaciones hemodinámicas y cardiovasculares maternas a la gestación descritas por otros autores, están mediadas en parte, por la producción de hormonas esteroideas a nivel placentario (Ueda y cols., 1986; Brosnihan y cols., 1999; Cuningham, 2003). Sin embargo, como se ha descrito con anterioridad, la razón del incremento de la actividad del SRAA durante la gestación permanece aún sin dilucidar. Aunque la síntesis de renina es fundamentalmente de origen renal, es posible que durante la gestación algunos de los cambios se produzcan debido al incremento de la producción a nivel uterino y de los tejidos fetoplacentarios, así como al efecto estimulador de los estrógenos sobre el sustrato de renina (Schrie y Briner, 1991; Oelkers, 1996). Por otro lado, el efecto natriurético de la progesterona también podría ser un estímulo desencadenante de la

síntesis de renina durante este mismo periodo (Catt y cols., 1974; Weinberger y cols., 1974; Weir y cols., 1975; Symonds, 1981).

Desde el punto de vista clínico, es importante destacar la contribución de SRAA en la patogénesis de determinados procesos patológicos, como la hipertensión, hipertrofia cardíaca y fallo cardíaco, como ha sido documentado en medicina humana (Carr y Gant, 1983; August y cols., 1990; 1995; Brown y cols., 1992; Langer y cols., 1998; Reid, 1998; Broughton Pipkin y Roberts, 2000; Hassan y cols., 2000; Israel y Peceño, 2000; Elsheikh y cols., 2001; Khraibi y cols., 2001; Alwan y cols., 2005; Paternoster y cols., 2006; Aidietis y cols., 2007; Borghi y cols., 2007; Hackam y cols., 2007; Kobori y cols., 2007). La importancia clínica del conocimiento de la respuesta cardiovascular a la gestación, radica en diagnosticar de forma temprana determinados procesos de restricción de crecimiento fetal, que podrían estar precedidos de fallos adaptativos del volumen materno durante los primeros periodos (Duvekot y cols., 1995; Takimoto-Ohnishi y cols., 2005; Gibson y cols., 2006).

Además, de forma previa a la valoración de las posibles variaciones de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en el curso de la gestación, es fundamental partir de valores de referencia. El hecho de disponer de valores de referencia para una raza concreta, aporta una información muy valiosa al clínico de équidos, ya que proporciona una información significativa acerca de la severidad y los efectos sistémicos de una enfermedad, y ayudan a valorar la respuesta del individuo al tratamiento (Ricketts, 1987; Lassen y Swardson, 1995; Messer, 1995).

## **1.2.-OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

En base a lo expuesto anteriormente y debido al interés creciente suscitado por el caballo Pura Raza Española (PRE) unido al desconocimiento de la dinámica que experimenta el SRAA y las hormonas de la reproducción durante la gestación en la yegua, los objetivos que se persiguen en la presente investigación son los siguientes:

**PRIMERO.**-Establecer valores de referencia para los siguientes parámetros hematológicos: valor hematócrito; bioquímicos: concentración de proteínas plasmáticas totales y electrolitos: sodio, potasio y cloro; y hormonales: renina, angiotensina, aldosterona, progesterona, sulfato de estrona y cortisol, en yeguas gestantes.

**SEGUNDO.**-Analizar la evolución de los parámetros hormonales, hematológicos y bioquímicos a lo largo de la gestación. Durante la gestación el organismo materno experimenta una serie de ajustes fisiológicos que ayudan a conservar su homeostasis y, a la vez, proporcionan una cantidad adecuada de nutrientes para alcanzar el óptimo desarrollo de la placenta y el feto. El establecimiento de un modelo concreto de referencia sobre la dinámica hormonal y sanguínea que experimenta la yegua sana durante la gestación, resulta de vital importancia para el veterinario clínico de équidos, ya que la instauración de patologías de origen diverso, podrían condicionar alteraciones de dichos parámetros.

**TERCERO:** Analizar la influencia de la edad de la yegua en las adaptaciones hematológicas, plasmáticas y endocrinológicas durante la gestación. De esta forma, por un lado, se podrían conocer mejor las pérdidas de gestación en animales de edad más avanzada, y por otro, mantener su actividad reproductiva al más alto nivel posible, supliendo de este modo, la demanda creciente de ejemplares por parte de propietarios de caballos PRE.

## **2.-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

Como se puede apreciar a lo largo de este trabajo de investigación, los enfoques y proposiciones teóricas acerca de la influencia de la gestación y edad sobre determinados parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales son variados, según la finalidad de los estudios y los autores. La presente revisión bibliográfica tratará de mostrar una perspectiva clara y concisa de los acontecimientos hematológicos, bioquímicos y hormonales que suceden durante la gestación en la yegua, valorando, además, el posible efecto de la edad sobre los mismos.

### **2.1.-PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS**

#### **2.1.1.-VALOR HEMATÓCRITO**

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

Dentro de la interpretación del análisis hematológico en relación a la serie roja se deben considerar varios factores de variación, entre los que se citan los siguientes: manejo de la muestra, precisión de las determinaciones, actitud y grado de excitación del animal, lugar de venipunción, alimentación, ritmos biológicos de tipo circadiano, sexo, estación del año, altitud, edad, estado fisiológico, raza, ejercicio y entrenamiento y efecto de la administración de tranquilizantes (Schalm, 1964; Archer y Jeffcott, 1977; Snow y cols., 1983; Jain, 1993; Rose y Hodgson, 1994; Car, 2000).

##### **2.1.1.1.-MANEJO DE LA MUESTRA**

Según Archer (1977), la utilización de tubos de vacío para la colección de la sangre puede provocar daños en las células. No obstante, el empleo de agujas de calibre superior a 21 G permite la obtención de resultados satisfactorios (Messer, 1995; Cole y Whitney, 1997).

Uno de los cambios que aparecen con más frecuencia debido al almacenamiento es el aumento del tamaño de los hematíes, circunstancia que se refleja en el incremento del valor hematócrito (Winter, 1968; Guyton, 1992).

Por otro lado, la exposición de la muestra a elevadas temperaturas ambientales o a la luz solar puede provocar hemólisis, obteniéndose valores alterados del recuento eritrocitario y de valor hematócrito (Rose y Hodgson, 1994).

#### **2.1.1.2.-PRECISIÓN DE LAS DETERMINACIONES**

La precisión de las determinaciones deriva de las características del equipamiento para el análisis. Por este motivo, se debe conocer el error al que se encuentran sometidos los estudios hematológicos efectuados, siendo recomendable la realización de mediciones repetidas, lo que permite una interpretación más fiable de los resultados (Rose y Hodgson, 1994; Cuenca y Pastor, 2006). De hecho, Persson (1975) describe una variación de hasta un 30% en los valores basales de hemoglobina en tres caballos trotones Standardbred, en los que se obtuvo sangre durante 7 días consecutivos.

#### **2.1.1.3.-ACTITUD Y GRADO DE EXCITACIÓN**

Otro aspecto que puede influenciar los resultados de la analítica sanguínea es la actitud y el grado de excitación que presenta el animal antes y durante la extracción de la muestra (Rose y Hodgson, 1994). El valor hematócrito en el caballo es muy variable, debido a la importante inervación del bazo y a su actuación como reservorio hemático, albergando en su interior más de la tercera parte del total de células rojas (Persson, 1967; 1968; 1973; 1997; Martínez y cols., 1988; Hanson y cols., 1995; Rubio y cols., 1995). De esta forma, cualquier estimulación adrenérgica, como ocurre durante el ejercicio, en respuesta a la excitación, a la pérdida de sangre..., provoca una esplenocntracción, liberando una gran cantidad de eritrocitos hacia la circulación periférica. Por esta razón, el valor hematócrito del caballo en reposo debe evaluarse cuidadosamente bajo diferentes niveles de excitación (Persson, 1967; Schalm y Carlson, 1982; Kurosawa y cols., 1998; Nagata y cols., 1999; Stull y Rodiek, 2000; Thornton, 2000).

El principal factor limitante es el tiempo necesario para recoger la muestra de sangre. Una venipunción de duración superior a 30 seg. altera significativamente el hemograma, ya que supone un cierto grado de movilización esplénica, derivado de la actuación de los ejes simpático-adrenal e hipotalámico-hipofisario (Persson, 1967; Nagata y cols., 1999).



#### **2.1.1.4.-LUGAR DE VENIPUNCIÓN**

El lugar para la toma de la muestra sanguínea parece tener un efecto considerable sobre el resultado del eritrograma, existiendo diferencias entre las muestras obtenidas a partir de distintas venas corporales: auricular, yugular, pectoral... (Sakurai y cols., 1967; Lindner y Birks, 1994).

#### **2.1.1.5.-ALIMENTACIÓN**

Otro factor a considerar es la alimentación recibida por el caballo. En este sentido, existen varios trabajos en los que se constata un incremento significativo del valor hematócrito y de las proteínas plasmáticas totales en animales alimentados a base de heno. Este hecho se asocia a las pérdidas de líquidos a través de la salivación (Kerr y Snow, 1982; Sufit y cols., 1985). De igual modo, se observan variaciones en los parámetros eritrocitarios en caballos con diferentes regímenes nutricionales (Gatta y cols., 1992; Greppi y cols., 1996; Raymond y cols., 2003), así como en animales a los que se adiciona sal común al alimento de forma previa a la extracción sanguínea (Mason y Know, 1977).

#### **2.1.1.6.-RITMOS BIOLÓGICOS DE TIPO CIRCADIANO**

Se sabe que los ritmos circadianos afectan a los diferentes parámetros hematológicos (Gill y Rastawicka, 1986; Gatta y cols., 1992; Gill y cols., 1994; Yashiki y cols., 1995; Lubas y cols., 1996; Piccione y cols., 2003).

Gill y Rastawicka (1986) describen que los periodos de oscuridad, o sea, los momentos nocturnos, se asocian a elevaciones en el valor hematócrito y en la concentración de hemoglobina. Hauss (1994) relaciona esta variación con la influencia sobre la eritropoyesis ejercida por la alternancia entre los periodos de luminosidad y de oscuridad. Años más tarde, Greppi y cols. (1996) corroboraron estos resultados, encontrando, además, que la concentración plasmática de proteínas totales también aumenta durante las horas de menor luminosidad.

#### **2.1.1.7.-SEXO**

Las diferencias hematológicas ligadas al sexo en los équidos parecen tener una importancia limitada. No obstante, existe una cierta controversia al respecto. Schalm (1964) observó que la cantidad de hemoglobina en los hematíes del macho es más elevada que en las hembras, dando lugar a valores superiores de hemoglobina corpuscular media (HCM) y de concentración hemoglobínica corpuscular media (CHCM).

Por el contrario, Schalm y cols. (1975) y Gill y Rastawicka (1986) describieron en caballos PSI y Cuartos de Milla que el recuento de glóbulos rojos, la cantidad de hemoglobina y el valor hematócrito eran superiores en las yeguas que en los machos.

Persson y Ullberg (1974) mostraron que los valores hematológicos basales eran más elevados en los sementales que en las yeguas y caballos castrados, debido a la actuación de los andrógenos sobre la eritropoyesis. Sin embargo, esta característica no se apreció durante el ejercicio, debido al establecimiento de una circulación hipocinética, con una mayor extracción de oxígeno por el músculo activo.

#### **2.1.1.8.-ESTACIÓN DEL AÑO**

Se sabe que la estación del año influye de forma notable sobre la hematología (Gill y Wanska, 1978; Gill y Kownacka, 1979; Gill y cols., 1986). De esta forma, se ha determinado que la concentración de hemoglobina y el valor hematócrito son superiores en verano y en otoño en relación al resto de las estaciones del año. Esta variación se relaciona con una ingestión mayor de proteínas y con la actividad física más intensa que los animales realizan durante estas épocas del año (Rowlands y cols., 1979; Singh y Rattan, 1981). Además, se constata que el frío intenso disminuye el número de glóbulos rojos, debido a la reducción de su vida media (Horton, 1978).

#### **2.1.1.9.-ALTITUD**

La altura sobre el nivel del mar también condiciona variaciones en el hemograma. De hecho, caballos sometidos a mayor altitud poseen un aumento significativo de la concentración de hemoglobina, del valor hematócrito y del recuento eritrocitario, respecto a animales que habitan en alturas inferiores. Se trata de un mecanismo compensatorio del menor contenido en oxígeno en el aire atmosférico, el cual se reduce de forma proporcional a la altitud (Wickler y Anderson, 2000).

#### **2.1.1.10.-RAZA**

La raza en équidos parece ejercer un efecto considerable sobre el eritrograma. Los caballos de las razas consideradas de sangre caliente (*hot-blooded*), como PSI, Árabe, Appaloosa, Cuarto de Milla y Standardbred, presentan valores hematológicos basales ligeramente superiores a los de las razas pesadas, de sangre fría (*cold-blooded*), como Percherón, Clydesdale y las razas de ponies (McLeod y Ponder, 1946; Knill y cols., 1969; Jain, 1993; Parry y Brobst, 1997; Satué, 2004).

#### **2.1.1.11.-EJERCICIO**

La relación existente entre la serie roja y el rendimiento deportivo en diversas disciplinas ecuestres ha sido objeto de estudio para muchos investigadores, dando lugar a resultados conflictivos. No obstante, la mayoría de los autores aceptan que los caballos más aptos físicamente presentan valores basales de recuento de células rojas, hemoglobina y valor hematócrito dentro de unos límites concretos (Stewart y Steel, 1974; Marbach, 1978). Los cambios hematológicos durante el ejercicio se producen conjuntamente con las adaptaciones cardiovasculares, con la finalidad de transportar el oxígeno hasta los tejidos metabólicamente activos (Persson, 1967).

La esplenotomía producida como consecuencia de la liberación de catecolaminas al inicio del ejercicio, puede incrementar el valor hematócrito hasta un 50% (Persson, 1967; Revington, 1983). El grado de movilización esplénica está supeditado a la duración y a la intensidad del esfuerzo y, por tanto, a la necesidad de oxígeno en los tejidos (Persson, 1983). De este modo, las actividades físicas máximas, como las carreras de velocidad, inducen una esplenotomía marcada, lográndose valores hematócritos hasta del 65-70% (Snow y cols., 1983; McKeever y cols., 1993). Las actividades físicas submáximas, por el contrario, no requieren un consumo de oxígeno tan elevado. En este caso, el incremento de los valores hemáticos es menor y depende, fundamentalmente, del estado hídrico, produciéndose pérdidas de agua y electrolitos debido a la intervención de los mecanismos termorreguladores (Judson y cols., 1983 a, b; Rubio y cols., 1994; 1995; Lacerda y cols., 2006).

#### **2.1.1.12.-ENTRENAMIENTO**

Muchos investigadores han evaluado el efecto del entrenamiento físico sobre el hemograma. Se describe un incremento de los valores eritrocitarios en reposo (Rose y cols., 1980; Allen y Powell, 1983; Rose y cols., 1983; Rose y Allen, 1985; Rose y Hodgson, 1994; Escribano y cols., 1995, b; Tyler-McGowan y cols., 1999).

También se comprueba que en el síndrome de sobreentrenamiento, relacionado, en parte, con insuficiencia o agotamiento adrenal, se puede estimular intensamente la eritropoyesis, condicionando policitemia secundaria fisiológica derivada de la hipoxia tisular (Persson, 1967; 1968; 1983; Bruin y cols., 1994; McKeever, 2002; Golland y cols., 2003).

### **2.1.1.13.-ADMINISTRACIÓN DE TRANQUILIZANTES**

La administración de compuestos tranquilizantes, como los derivados fenotiazínicos (acepromazina, clorpromazina,...) y los  $\alpha_2$ -adrenérgicos (xilazina, romifidina, detomidina,...) modifica sustancialmente el hemograma basal. Su acción se basa en la relajación de la musculatura lisa de la cápsula esplénica, propiciando el almacenamiento de células rojas en el bazo (Jeffcott, 1977; Muir y Hubbell, 1991). Del mismo modo, estas sustancias generan un efecto hipotensivo prolongado, tras una primera fase corta de hipertensión. La hipotensión conduce a un incremento del volumen plasmático. La hemodilución resultante, asimismo, da lugar a una reducción de los valores hemáticos en reposo (Jeffcott, 1974; Snow y MacKenzie, 1977).

### **2.1.1.14.-EDAD**

La influencia de la edad sobre los parámetros hematológicos ha sido evaluada en diversas razas equinas (Ralston y cols., 1988; McFarlane y cols., 1998; 2001; Cebulj-Kadunc y cols., 2002; 2003; Satué, 2004). Sin embargo, la mayor parte de los estudios que relacionan la hematología con la edad se han focalizado en potros desde el nacimiento a los cuatro años de edad (Stewart y cols., 1970; Harvey y cols., 1984; Jain, 1993), aunque recientemente los caballos geriátricos han recibido mayor atención, probablemente debido al incremento de estos mismos en la población equina (McFarlane y cols., 1998; Paradis, 2002).

Los potros recién nacidos poseen eritrocitos de origen fetal, de gran tamaño, presentando niveles elevados de glóbulos rojos, de concentración de hemoglobina y de valor hematócrito. Dichos parámetros se reducen progresivamente durante el primer mes de vida. El declive experimentado por los parámetros eritrocitarios durante los primeros estadios de la vida del animal está supeditado a la expansión rápida del volumen plasmático, debida a la ingestión del calostro, al incremento en la destrucción de los hematíes fetales y a la inadecuada suplementación de hierro necesario para la síntesis de hemoglobina. A partir del segundo mes de vida, se inicia un aumento gradual de estos parámetros, que culmina al año de edad. En este momento, el animal muestra valores sanguíneos similares a los del adulto (Jain, 1993).

Stewart y cols. (1970) estiman que el valor hematócrito y la cantidad de hemoglobina disminuyen en potros PSI menores de 2 años de edad, incrementándose a continuación, hacia los 2 años. Entre los 3 y los 4 años, existe un incremento gradual de VCM y de HCM y, dado que la concentración de hemoglobina y el valor hematócrito permanecen constantes durante este periodo, el incremento en el tamaño celular se

acompaña de una ligera reducción del número de hematíes. Otros autores encuentran estos mismos resultados en caballos de raza Lippizana y en caballos salvajes (Raltson y cols., 1988; McFarlane y cols., 1998; Cebulj-Kadunc y cols., 2002).

En yeguas gestantes PRE de Estirpe Cartujana, Satué (2004) mostró una reducción del número de glóbulos rojos con un aumento compensatorio del VCM y de la HCM, como previamente había sido descrita en caballos Standardbred (Stewart y cols., 1970; Jain, 1986; Ralston y cols., 1988), Lippizanos (Cebulj-Kadunc y cols., 2002) y équidos salvajes (Plotka y cols., 1988). Sin embargo, McFarlane y cols. (1998) únicamente encontró una tendencia a la disminución en caballos geriátricos, sin alcanzar la significación estadística. Este tipo de respuesta eritrocitaria podría estar relacionada con una disminución de la capacidad regenerativa de la médula ósea (McFarlane y cols., 1998).

El incremento en el tamaño eritrocitario parece ser un hallazgo frecuente asociado a la edad en el caballo (Raltson y cols., 1988; McFarlane y cols., 1998; Satué, 2004). El aumento del VCM aparece en caballos adultos en respuesta a anemia severa asociada a respuesta regenerativa intensa de la médula ósea (Easley, 1985; Radin y cols., 1986) o bien a cambios en la dinámica de maduración de los glóbulos rojos (McFarlane y cols., 1998).

Estos mismos cambios en el VCM con la edad también han sido documentados en pacientes humanos adultos y se asocian a la disminución de vitamina B<sub>12</sub> o folatos en la dieta (Matthews y cols., 1988). De hecho, la suplementación con vitamina B<sub>12</sub> y ácido fólico provoca un aumento del VCM. En équidos, Stillions y cols. (1971) mostraron la carencia de deficiencias vitamínicas, principalmente debida a la síntesis endógena mediante fermentación microbiana a nivel del intestino grueso. Sin embargo, existen situaciones que podrían causar deficiencias vitamínicas en el caballo, como entrenamiento excesivo, ejercicio o confinamiento (Roberts, 1983).

#### **2.1.1.15.-ESTADO FISIOLÓGICO**

Tras la fertilización, en la hembra se producen importantes mecanismos de adaptación tanto a nivel cardiovascular como metabólico, que persisten a lo largo de la gestación. Entre estos cambios adaptativos, las modificaciones hematológicas se producen como consecuencia de la adecuación del organismo a las mayores exigencias derivadas del desarrollo fetal y uterino, que incluyen la formación de un nuevo órgano esencialmente vascular, la placenta, que consume gran parte del gasto cardiaco (Weissgerber y Wolfe, 2006).

Las investigaciones que evalúan los cambios hematológicos derivados de la gestación en la yegua son escasas y controvertidas. Estudios realizados en yeguas gestantes PSI, Árabes, PRE de Estirpe Cartujana, Brasileñas y Bretonas, han observado un incremento significativo del número de eritrocitos durante el periodo gestacional (Hansen y Tood, 1951; Mason y Kwok, 1977; Berlink y cols., 2000; Satué, 2004; Orozco y cols., 2007). En otras especies animales, como la oveja, se han descrito hallazgos hematológicos similares (González y cols., 1994). No se dispone de ninguna explicación razonable para justificar estos hechos, si bien se hipotetiza que la intensidad de los requerimientos metabólicos fetales durante este periodo podría condicionar este tipo de respuesta (Satué, 2004).

Un estudio previo realizado en yeguas PSI describió la aparición de una anemia de intensidad ligera durante el último periodo de gestación (Trum, 1951). Esta observación en la yegua coincide con diversas investigaciones realizadas en la mujer (Hyttén y Paintin, 1963; Hyttén y Leitch, 1971; Botella y Clavero, 1974; Sala y cols., 1995; Souza y cols., 2002; Bailit y cols., 2007) y varias especies animales, como vacuno (Steinhardt y cols., 1994), elefantes hembra (Ratnassooriya y cols., 1993), perras (Allard y cols., 1989), ovejas de diferentes razas (del Valle y cols., 1983; Ramos y cols., 1992; González y cols., 1994; García-Baratute y cols., 2002), cerdas (Zvorc y cols., 2006), cabras (Fortagne y Schafer, 1989; Mbassa y Poulsen, 1991; Azab y Andel Maksoud, 1999; Viana y cols., 2003) y primates (Suzuki y cols., 1996; Harewood y cols., 2000).

Esta disminución de la eritrocitemia durante la gestación se ha asociado con el incremento del volumen sanguíneo, con ganancia absoluta de plasma, volumen celular y concentración de hemoglobina. A pesar de la elevación global de la volemia, el aumento de estos dos últimos elementos sanguíneos ocurre a menor velocidad que el del plasma, por lo que se origina una oligocitemia relativa, a pesar del ascenso de la concentración de eritropoyetina, posiblemente derivado de la secreción de prolactina placentaria (Hyttén y Leitch, 1971; McMullin y cols., 2003). La hipervolemia gravídica se ha relacionado con la retención de agua y de sodio a nivel renal, debido a la actuación del SRAA, estimulado bajo la acción de los estrógenos. Este estado de hipervolemia inducida por la gestación se hace necesario para cubrir las demandas del útero grávido, proteger a la madre y al feto de los efectos perjudiciales de la disminución del retorno venoso y evitar que la madre padezca los efectos adversos de la pérdida de sangre durante el parto (Jepson, 1968; Cotes y cols., 1983; Longo, 1983; McMullin y cols., 2003).

Aunque la anemia ferropénica no es un hallazgo hematológico común en la yegua gestante, Detlef (1985) estudió el efecto de la suplementación de hierro en un grupo de yeguas gestantes frente a un grupo control no tratado. Mientras que en el grupo de

yeguas tratadas, el número de eritrocitos y la concentración de hemoglobina no mostraron variaciones a lo largo de la gestación, en el grupo control se evidenció un declive de los parámetros eritrocitarios hacia el final de la preñez. Además, los potros nacidos de madres que habían sido suplementadas poseían mayor recuento eritrocitario y concentración de hemoglobina que los de las yeguas no tratadas.

En momentos cercanos al parto, la mayoría de estudios realizados sobre el análisis de la eritrocitemia en la yegua, no han revelado variaciones significativas (Plaschka y cols., 1997; Taylor-Macallister y cols., 1997; Manso y cols., 1998). Tras el alumbramiento, la eritrocitemia aumenta ligeramente, una vez que se restablece el volumen normal al liberarse los anejos y líquidos fetales (Botella y Clavero, 1974; Jain, 1993). Dicha idea es defendida por diversos autores, como Trum (1951) en yeguas, Allard y cols. (1989) en perras y Ratnasooriya y cols. (1993) en elefantes hembra.

## **2.1.2.-PARÁMETROS BIOQUÍMICOS**

### **2.1.2.1.-PROTEÍNAS PLASMÁTICAS EN EL CABALLO**

El plasma sanguíneo constituye el componente líquido de la sangre, sobre el que se disponen los diferentes elementos formes. A partir de él, las células obtienen sus nutrientes y depositan sus productos de desecho (Webb y Weaver, 1979). Los componentes mayoritarios del plasma son las proteínas, que representan aproximadamente 6-8 g/dl de sangre, mientras que el componente no proteico supone sólo 1 g/dl de plasma. Las diversas fracciones que integran a las proteínas en el plasma son el fibrinógeno (7%), las globulinas (38%) y la albúmina (54%), fundamentalmente. De todos ellos, la albúmina, es el principal determinante de la presión osmótica coloidal (Kaneko, 1997).

Las funciones que se atribuyen a las proteínas plasmáticas son innumerables. Por una parte, conforman la base de estructuras celulares, órganos y tejidos, regulan la presión osmótica coloidal, favoreciendo el mantenimiento del volumen plasmático y la volemia, son catalíticas en algunas reacciones bioquímicas, constituyen la base estructural de determinadas hormonas, intervienen en la coagulación sanguínea y en la génesis de anticuerpos, son sustancias nutritivas, tienen función tampón o buffer, colaborando en la estabilidad del pH sanguíneo, contribuyen al mantenimiento de la tensión arterial, a la resistencia vascular periférica, y son transportadoras de la mayoría de componentes del plasma (Kaneko, 1997).

En condiciones fisiológicas, la concentración de proteínas plasmáticas permanece relativamente estable a lo largo del tiempo. Sin embargo, existen numerosos factores

fisiológicos que pueden condicionar modificaciones de los valores basales. Entre dichos factores, se citan la influencia hormonal y sexual, nutrición, estrés, pérdida de fluidos, ejercicio, edad y crecimiento físico y estado fisiológico, como gestación y lactación (Kaneko, 1997; Thomas, 2000; Siciliano, 2002).

#### **2.1.2.1.1.-INFLUENCIA HORMONAL Y SEXUAL**

De forma general, el efecto de los cambios hormonales sobre la concentración de proteínas plasmáticas suele ser de intensidad leve, incluso cuando las repercusiones sobre la ganancia de peso o las influencias sobre la composición corporal son marcadas (Kaneko, 1997; Thomas, 2000).

Las hormonas pueden ejercer dos tipos de acciones sobre las proteínas plasmáticas: anabólicas y catabólicas. La testosterona y los estrógenos son hormonas anabólicas en todas las especies (Perk y Lobi, 1960; Kaneko, 1997).

La tiroxina desempeña un efecto catabólico, provocando una disminución de las proteínas totales en plasma. Los glucocorticoides, caracterizados por su acción glucogénica, también causan un descenso en los niveles de gammaglobulinas (Kaneko, 1997).

#### **2.1.2.1.2.-INFLUENCIAS DE TIPO NUTRICIONAL**

La concentración de proteínas plasmáticas se modifica por factores de tipo nutricional, si bien, en la mayoría de los casos, los cambios son de pequeña magnitud y de difícil detección e interpretación. Se constata en la bibliografía que la depleción dietaria de proteínas induce hipoproteinemia o hipoalbuminemia en diversas especies animales (Jeffay y Winzler, 1958; Kaneko, 1997; Siciliano, 2002). En animales adultos, las demandas nutricionales aparecen incrementadas en determinados estados fisiológicos (gestación y lactación) así como en la fase de recuperación por daño tisular o lesión (Thomas, 2000).

#### **2.1.2.1.3.-ESTRÉS Y PÉRDIDA DE FLUIDOS**

Los animales sometidos a condiciones de estrés, así como a procesos febriles, situaciones de frío intenso, etc... muestran una capacidad adrenal incrementada, capaz de inducir una reducción de los niveles plasmáticos de proteínas totales (Cornelius y cols., 1962; Kaneko, 1997).



Por otro lado, en procesos inflamatorios y/o infecciosos, en los que se produce una movilización de líquidos y de proteínas con formación de edemas, existe hipoalbuminemia. Dicho proceso se debe a la salida de proteínas hacia el espacio extravascular debido a los cambios en la permeabilidad en el lecho vascular tras la lesión endotelial (Kaneko, 1997; Thomas, 2000).

En condiciones de deshidratación, con hemoconcentración por reducción del volumen plasmático, existe hiperproteinemia, siempre y cuando no haya una pérdida adicional de proteínas. Sin embargo, la pérdida de sangre entera, como ocurre en las patologías hemorrágicas, desencadena hipoproteinemia (Kaneko, 1997; Thomas, 2000).

En condiciones de estrés e inflamación aguda se produce un incremento de las fracciones  $\alpha$  y  $\beta$  globulinas. La inflamación crónica o infección se asocia con una producción incrementada de  $\gamma$  globulinas (Thomas, 2000).

#### **2.1.2.1.4.-EJERCICIO**

La actividad física puede condicionar una respuesta variable en la proteinemia. Los ejercicios de intensidad máxima y corta duración, que cursan con esplenotomía intensa e incremento de la presión hidrostática, fuerzan la salida de las proteínas plasmáticas de bajo peso molecular hacia el espacio intersticial. Posteriormente, se detecta un incremento asociado con cambios intercompartmentales de fluidos y sudoración (McKeever y cols., 1993; Williamson y cols., 1996; Muñoz y cols., 1999; Kedzierski y Bergero, 2006).

Los ejercicios de intensidad submáxima, tanto de corta como de larga duración, suelen inducir hiperproteinemia secundaria al descenso en el volumen plasmático circulante. Éste puede perderse, bien por los cambios intercompartmentales de fluidos, bien por la actuación de los mecanismos de termorregulación (Judson y cols., 1983, a, b; Snow y cols., 1983; Muñoz y cols., 2006).

#### **2.1.2.1.5.-EDAD**

La edad es un factor importante a considerar en la interpretación de las modificaciones que se producen en las proteínas plasmáticas. En el feto, tanto la concentración de proteínas plasmáticas totales, como la fracción de la albúmina se incrementan progresivamente con la edad. Antes del nacimiento, existe una ausencia completa de inmunoglobulinas (Kaneko, 1997).

Tras el alumbramiento y durante las primeras 24 horas de vida, mediante la ingestión del calostro materno, se produce la transferencia pasiva de inmunoglobulinas de

la madre al potro, alcanzándose la concentración máxima de proteínas plasmáticas totales (Kaneko, 1997).

Transcurrido el primer día de vida, y una vez concluida la transferencia pasiva de inmunidad, la concentración de proteínas plasmáticas totales desciende progresivamente, hasta que el potro adquiere capacidad para elaborar sus propias proteínas (Thomas, 2000). Finalizado el periodo de lactancia del potro, la concentración de proteínas plasmáticas totales experimenta un ligero incremento conforme aumenta la edad del animal. Al mismo tiempo, se produce un descenso en el cociente albúmina/globulina (Kaneko, 1997).

En el animal adulto, la cantidad de proteínas plasmáticas permanece relativamente constante, hasta llegar a la senectud, momento en el que declinan significativamente (Tumbleson y cols., 1972; Kaneko, 1997; Siciliano, 2002). Esta reducción proteica caracterizada por hipoalbuminemia e hiperglobulinemia se ha observado en personas (Kubota y cols., 1991; Takubo y Tatsumi, 2000; Martin y cols., 2001), asnos (Zinkl y cols., 1990), gatos (Nakai y cols., 1992) y perros (Uchiyama y cols., 1985; Lowseth y cols., 1990). En équidos, por el contrario, McFarlane y cols. (1998) y Satué (2004) mostraron un aumento de las proteínas plasmáticas totales con la edad.

Finalmente, cabe destacar que la hiperproteïnemia en ausencia de hemoconcentración en caballos geriátricos a menudo, podría ser indicativo de hipergammaglobulinemia, como resultado de estimulación antigénica crónica (Dickinson y Lori, 2002).

#### **2.1.2.1.6.-ESTADO FISIOLÓGICO**

La adaptación a la gestación implica una serie de ajustes en el metabolismo hidrocarbonado, lipídico y proteico materno, para abastecer las demandas metabólicas crecientes impuestas por el feto. En respuesta al estrés adicional debido al desarrollo fetal, la concentración de proteínas plasmáticas totales experimenta variaciones intensas a lo largo de la gestación. Sin embargo, la dirección y magnitud de estos cambios varía considerablemente, habiéndose descrito estados de hipo e hiperproteïnemia (Kalhan, 2000).

En ovejas, diversos estudios de investigación han puesto de manifiesto una hipoalbuminemia durante el segundo periodo de la gestación. Hacia el momento del parto, se produce una recuperación de la albuminemia acompañada de hipoglobulinemia e hipoproteïnemia progresiva (Dunlap y Dickson, 1955; Sala y cols., 1995). De forma contraria, en la cerda, la disminución de proteína plasmática total al final de la gestación se ha asociado con el declive de la concentración de globulinas e inmunoglobulina G

(IgG) necesarias para la formación de calostro, sin modificación de la concentración de albúmina (Machado-Neto y cols., 1987; Goff y Horst, 1997; Castillo y cols., 2005; Verheyen y cols., 2007). Sin embargo, la inmunoglobulina M (IgM) declina de forma continua durante la gestación tardía y lactación, asociada a la disminución de la función inmunológica durante este periodo de estrés (Van de Ligt y cols., 2002).

Por el contrario, otras investigaciones realizadas en ovejas y cabras han descrito un estado de hiperproteinemia durante el periodo reproductivo (Alonso y cols., 1997; Mbssa y Poulsen, 1991). En ganado vacuno, este estado de hiperproteinemia se produce 2 meses con anterioridad al parto, alcanzando su valor máximo 1 mes después del nacimiento, para declinar durante el periodo de lactación (Zvorc y cols., 2000; Yokus y Cakir, 2006).

En yeguas, los estudios realizados sobre la evolución de la proteinemia durante la gestación han revelado resultados contradictorios. Así, mientras que algunos autores no han encontrado variaciones significativas en la proteinemia durante el periodo gestacional (Felbinger, 1987; Plaschka y cols., 1996; Satué, 2004; Orozco y cols., 2007), otros han descrito estados de hipoproteinemia (Jain, 1993; Harvey y cols., 1994) e hiperproteinemia (Herak y cols., 1994; Milinkovic-Tur y cols., 2005).

#### **2.1.2.2.-ELECTROLITOS PLASMÁTICOS EN EL CABALLO (SODIO, POTASIO Y CLORO)**

Debido a las importantes funciones biológicas de los electrolitos, como conducción nerviosa, contracción muscular y equilibrio ácido-básico, sus concentraciones plasmáticas se encuentran sometidas a una regulación estricta. Por otro lado, se acepta que incluso las variaciones pequeñas de las concentraciones circulantes de iones fuera del rango fisiológico se asocian fundamentalmente a patologías como enteritis, tiflocolitis, fallos renales y/o pérdidas hídricas severas como sudoración (Rose y Hodgson, 1994; Stockham, 1995; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999).

##### **2.1.2.2.1.-SODIO**

Se han descrito valores basales de 133-136 mmol/l de sodio en équidos (Art y cols., 1990; Rose y Hodgson, 1994; Ecker y Lindinger, 1995; Sloet van Oldruilenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006). La natremia refleja más intensamente las modificaciones en el contenido de agua que los cambios netos de sodio, de forma que, la pérdida relativa de agua se traduce en hipernatremia y un exceso relativo, en una

hiponatremia. De hecho, el sodio es el catión extracelular más importante desde el punto de vista cuantitativo, determina la osmolaridad plasmática y el volumen del compartimento extracelular (Kaneko, 1997; Stockham, 1995).

#### **2.1.2.2.1.1.-EVOLUCIÓN DE LA NATREMIA DURANTE LA GESTACIÓN**

La gestación se caracteriza por un incremento de la retención de sodio, necesario para la conservación del equilibrio hidroelectrolítico materno y fetoplacentario (Rowlands y cols., 1975; Dutton y cols., 1979). Este mecanismo de retención favorece el correcto desarrollo y funcionamiento orgánico fetal y de la placenta, y su origen se asocia principalmente con: a) incremento de la actividad del SRAA, b) alteración de la filtración glomerular y c) aumento de la sensibilidad de los túbulos renales a la actividad mineralocorticoide de la aldosterona (Robb y cols., 1970). Entre otros factores, también se citan la acción del cortisol y los estrógenos (Burrow y Ferris, 1995; Jovanovic-Peterson y Peterson, 1995).

La retención de sodio se hace muy patente en el último trimestre de la gestación en la mujer (Venning y cols., 1959) y la vaca (Hawk y cols., 1961) y se relaciona con la acumulación de fluidos en los anejos fetales, y la expansión de la volemia en la madre, sin modificaciones paralelas en el resto de tejidos orgánicos maternos. En roedores, por el contrario, este mecanismo de retención también afecta a los tejidos maternos (Lichten, 1961). En ambos casos, la retención de sodio conlleva a la estimulación de la síntesis de aldosterona y sucede de forma análoga al mecanismo propuesto de forma experimental por Davis y cols. (1958). Dicho experimento mostró que el secuestro de sodio o fluidos en cavidad peritoneal procedentes del lecho vascular, inducía la síntesis adrenal de aldosterona. Estos mecanismos homeostáticos podrían explicar hechos como el incremento del líquido extracelular materno, la expansión y desarrollo de la placenta, crecimiento fetal, necesarios durante la gestación (Chesley, 1943; MacGillivray y Buchanan, 1958; Jones y cols., 1959; Plentl y Gray, 1959).

Entre otros factores que podrían condicionar la secreción de aldosterona durante la gestación se citan la concentración de progesterona de origen placentario y su efecto natriurético (Landau y cols., 1955; 1957; 1958; Watanabe y cols., 1963). Martin y Mills (1956) sugirieron que la interacción competitiva de ambos esteroides podría explicar la elevada excreción de aldosterona durante la gestación y la disminución de las pérdidas urinarias de sodio. De hecho, la administración exógena de progesterona en mujeres gestantes induce hipersecreción de aldosterona de forma compensatoria (Watanabe y cols., 1963).

Por otro lado, se ha expuesto que la suplementación con sales a la mujer (McKnight y cols., 1994) y la rata gestante (Bird y Contreras, 1986; Carvalho y cols., 1998), conduce a la reducción de la actividad plasmática de la renina y de la concentración de aldosterona, con signos de natriuresis (Deloof y cols., 2000; Duley y Henderson-Smart, 2000). En estas situaciones se revierten los efectos competitivos de la progesterona sobre la aldosterona (Sundsfjord y Askvaag, 1970; Whipp y cols., 1978). No obstante, Auger y cols. (2004) determinaron que este tipo de dietas en la gestante inducen el aumento de la concentración plasmática de sodio y del flujo sanguíneo fetal, debido a la retención de fluidos (Churchill y cols., 1980). Asimismo, existen otros mecanismos que estimulan la natriuresis durante la gestación, como el incremento de la filtración glomerular y la excreción de bicarbonato, como mecanismo compensatorio de la alcalosis (Baylis, 1994; Burrow y Ferris, 1995; Jovanovic-Peterson y Peterson, 1995; Jeyabalan y Conrad, 2007).

En estos casos, la retención de sodio se produce a pesar del fuerte estímulo natriurético ejercido por el incremento de la filtración glomerular y del flujo plasmático renal (Lindheimer y Katz, 1992; Patel y Zhang, 1993; Mahaney y cols., 1998). En mujeres y perras gestantes, se ha postulado que la excreción de sodio debida al incremento de la filtración glomerular, podría compensarse fisiológicamente debido a la actuación conjunta de la aldosterona y los estrógenos a nivel de los túbulos renales, favoreciendo la reabsorción tubular de sodio (Davis y cols., 1952; 1976; Weir y cols., 1971). En la mujer, el grado de reabsorción tubular puede incrementarse hasta un 50% durante este periodo.

La renina secretada durante la gestación junto con la acción combinada de la aldosterona y los estrógenos también constituiría un potente estímulo sobre la reabsorción de sodio (Davis y cols., 1976). A pesar de ello, algunos estudios iniciales describieron que en algunas circunstancias, el incremento de la concentración de renina condiciona una disminución de la concentración plasmática de sodio y por tanto, una disminución del fluido extracelular (Brown y cols., 1965; 1966). De hecho, en perras gestantes, la retención de sodio puede ocurrir en presencia de concentraciones de aldosterona y renina normales (Robb y cols., 1970). Los cambios en la molaridad del fluido tubular renal asociados a hipervolemia durante la gestación podrían representar uno de los estímulos más potentes para la liberación de la renina renal (Hyttén y Paintin, 1963; Lever, 1965; Brown y cols., 1966).

Por estas circunstancias, los estudios realizados sobre la evolución de la natremia durante la gestación son contradictorios. Así, mientras que en yeguas, Plaschka y cols. (1996) no presentaron modificaciones de las concentraciones de sodio, en esta misma especie, Harvey y cols. (2005), y en la mujer y diversos animales de experimentación

Oliver y cols. (1981), Atherton y cols. (1982) y Kathleen y cols. (2002), mostraron situaciones de hiponatremia asociadas a la preñez.

Contrariamente al mecanismo de retención de sodio puesto en marcha durante la gestación, en la mujer se ha citado que durante el último periodo de gestación la concentración de sodio puede disminuir, mantenerse en un margen de variación amplio o no variar (Lucius y cols., 1970; Weir y cols., 1971; Oliver y cols., 1981).

#### **2.1.2.2.-POTASIO**

Se han descrito valores basales de 3,6-4,5 mmol/l de potasio en équidos (Art y cols., 1990; Rose y Hodgson, 1994; Ecker y Lindinger, 1995; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006).

El potasio es un electrolito esencial para garantizar la funcionalidad correcta de numerosas funciones corporales, especialmente la actividad neuromuscular. Como cualquier herbívoro, el caballo ingiere elevadas cantidades de potasio con la dieta, eliminando aproximadamente 2/3 con la orina (Harris y Snow, 1992; Rose y Hodgson, 1994; Stockham, 1995). Hay que tener en cuenta que el potasio es un ión intracelular. De este modo, la calemia no es representativa de los cambios en el potasio sistémico. No obstante, se acepta que las calemias inferiores a 3 mmol/l sugieren una depleción sistémica de este electrolito. Por otro lado, los niveles circulantes de este electrolito se ven afectados por el equilibrio ácido-básico, incrementándose en caso de acidosis (Muñoz y cols., 2006).

En caballos sanos no es común encontrar una hipocalemia en reposo, a no ser que su dieta se base en concentrados o que las pérdidas por sudoración no sean reemplazadas correctamente (Carlson, 1990; Rose y Hogdson, 1994; Stockham, 1995; Sloet van Oldrilenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006). Además, la hipercalemia puede deberse a hemólisis o manejo incorrecto de la muestra sanguínea (Muñoz y cols., 2006). El potasio tiene una función importante en la instauración de un estado de fatiga periférica, debido a alteraciones en los procesos de excitación de membrana y en asociación con la acumulación de este electrolito en el espacio intersticial fibrilar o en el sistema tubular transversal de las miofibras. Además del músculo esquelético y cardíaco, los cambios en la calemia pueden ejercer un efecto perjudicial en otros órganos, como por ejemplo los túbulos renales, desencadenando una insuficiencia renal aguda (Messer, 1995; Stockham, 1995).

#### **2.1.2.2.1.-EVOLUCIÓN DE LA CALEMIA DURANTE LA GESTACIÓN**

Las investigaciones que evalúan las variaciones asociadas al potasio derivadas de la gestación son escasas. Así, en la mujer, Weir y cols. (1971) y Bentley-Lewis y cols. (2005) y en la yegua PRE, Plaschka y cols. (1996) no evidenciaron modificaciones de este electrolito a lo largo de la preñez. Sin embargo, en yeguas Quarter Horse, PSI, Saddlebred, Standardbred y Morgan, Harvey y cols. (2005) mostraron valores medios de potasio inferiores durante la lactación en comparación con el periodo gestacional. Esta disminución de la potasemia se ha asociado con la pérdida de potasio sérico para la formación de calostro a nivel de la glándula mamaria (Peaker y cols., 1979; Rook y cols., 1997). Este estado de hipocalemia también se ha descrito en la mujer, la rata y la oveja (Lindheimer y cols., 1981; LaBorde y cols., 1999). A pesar de estas afirmaciones anteriores, se han mostrado estados de hipercalemia asociados con la gestación (Metcalf y cols., 1988). Este exceso de potasio durante la gestación se ha atribuido al efecto antagonista de la progesterona sobre la aldosterona (Metcalf y cols., 1988).

#### **2.1.2.2.3.-CLORO**

Se han descrito valores basales de 98,4-101 mmol/l de cloro en équidos (Art y cols., 1990; Rose y Hodgson, 1994; Ecker y Lindinger, 1995).

El cloro es el anión principal en el espacio extracelular y en el sudor. La mayor parte del cloro procede de la dieta, especialmente de las leguminosas y su excreción es básicamente renal (Groenendyk y cols., 1988). La alteración más común en caballos de deporte es la hipocloremia, debido a las pérdidas por sudoración intensa (McConaghy, 1994; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006). La hipercloremia se observa en situaciones de acidosis metabólica o acidosis tubular renal (Alemán y cols., 2001; Muñoz y cols., 2006).

#### **2.1.2.2.3.1.-EVOLUCIÓN DE LA CLOREMIA DURANTE LA GESTACIÓN**

No se dispone de información suficiente sobre la evolución de la cloremia en yeguas gestantes. No obstante, se sugiere que, este parámetro no se encuentra sometido a cambios sustanciales durante el periodo de gestación (Weir y cols., 1971; MacDonald y Good, 1972; Johnson y cols., 1996; Plaschka y cols., 1996). A pesar de estas afirmaciones, se han documentado elevaciones importantes en la concentración de este electrolito en la mujer (MacDonald y Good, 1971) y la yegua (Harvey y cols., 2005). Aunque algunos investigadores no encuentran una explicación razonable a este hecho,

otros atribuyen estas modificaciones a la dinámica endocrinológica presente en la hembra durante este periodo.

#### **2.1.2.2.4.-INFLUENCIA DE LA EDAD SOBRE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ELECTROLITOS**

Se conoce que la edad condiciona alteraciones en el control de la homeostasis del sodio y fluidos, habiéndose descrito estados de hipo e hipernatremia (Tierney y cols., 1987). De forma general, los individuos jóvenes sanos no presentan dificultades para excretar correctamente el sodio por vía renal, sin embargo, con el avance de la edad, la capacidad de excreción se reduce (Luckey y Parsa, 2003). La hiponatremia es el desequilibrio electrolítico más conocido en individuos geriátricos, y se asocia al fallo de los mecanismos hormonales vinculados con la homeostasis del sodio. De esta forma, se presenta hiponatremia acompañada de niveles elevados de ADH en el "*Síndrome de Secreción Inapropiada de ADH*". Existen numerosas condiciones patológicas relacionadas con este síndrome como, patologías del sistema nervioso central, patologías de origen infeccioso, determinados agentes farmacológicos y procesos tumorales (Hirshberg y Ben-Yehuda, 1997; Luckey y Parsa, 2003). A pesar de ello, la hipernatremia también ha sido identificada en individuos ancianos hospitalizados, aunque su origen se atribuye a procesos febriles y determinadas cirugías (Snyder y cols., 1987).

Los límites homeostáticos de excreción renal de potasio no han sido bien definidos en animales adultos, aunque son más estrechos que los de individuos jóvenes. Determinadas situaciones de cirugía, tras la acción de determinados fármacos o bien la suplementación rica en potasio en individuos geriátricos hospitalizados, conducen a un estado de hipercalemia. En la actualidad se tiende a utilizar dietas pobres en sal, y de forma inherente, elevadas de potasio. Dichos pacientes exhiben concentraciones de potasio normales o elevadas, sin manifestación de signos clínicos. En situaciones de cirugía, trauma o lesiones tisulares, o tras administración de determinados fármacos, se puede mostrar hipercalemia con signos de insuficiencia renal aguda. Además, en estos individuos la respuesta a la aldosterona disminuye notablemente, acompañándose de hipoaldosteronismo (Luckey y Parsa, 2003).

En équidos sanos, la bibliografía sobre las variaciones en las concentraciones electrolíticas asociadas a la edad es escasa, posiblemente debido a la necesidad de poseer unos rangos estrechos para mantener la homeostasis interna. De hecho, El Amrouse y Soliman (1965) no encontraron modificaciones en los niveles de sodio, potasio y cloro con el avance de la edad. Sin embargo, se ha mostrado que en comparación con



animales adultos, los potros neonatos presentan menores cantidades de potasio y mayores de cloro, debido a la ingestión de calostro en presencia de un riñón que aún no es completamente funcional (Stockham, 1995).

## **2.2.-PARÁMETROS HORMONALES**

### **2.2.1.-SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA**

El SRAA conforma uno de los principales mecanismos reguladores de la homeostasis hidroelectrolítica y de la presión arterial sistémica, con especial referencia a la presión de perfusión renal (Peach, 1977; Broughton Pipkin, 1984; Vallotton, 1987; Vinson y cols., 1995; Cunningham, 2003; He y MacGregor y cols., 2003). A tal fin, este sistema engloba un conjunto de reacciones químicas en forma de cascada enzimática, cuyo producto final es la síntesis de angiotensina II, molécula efectora de potente efecto vasoconstrictor, tanto a nivel sistémico como central (Lever, 1993; Squire y Reid, 1993).

Los componentes de la cascada de este sistema engloban cuatro órganos esenciales: el riñón, productor de renina, el hígado, lugar de síntesis de angiotensinógeno, el lecho vascular pulmonar, sobre el que actúa la enzima convertidora de angiotensina I en angiotensina II o convertasa (ECA) y la corteza adrenal, lugar en el que se produce la síntesis de aldosterona (Vallotton, 1987; Cunningham, 2003).

#### **2.2.1.1.-COMPONENTES DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA**

##### **2.2.1.1.1.-RENINA**

La renina es una aspartil proteasa altamente específica producida por las células mioepiteliales del aparato yuxtaglomerular renal, localizadas principalmente en la arteriola aferente del glomérulo renal, capas subadventiciales de las arterias interlobares y arteriolas eferentes (Ondetti y Cushman, 1982). Esta enzima cataliza la conversión de angiotensinógeno a angiotensina I (Reid, 1998; Barber y Barber, 2003; Cunningham, 2003).

A nivel del retículo endoplásmico rugoso de las células yuxtaglomerulares, la renina se sintetiza como precursor inactivo o prorenina (De Vito y cols., 1970), utilizando dos rutas alternativas. En la primera ruta, de tipo regulada, la prorenina una vez sintetizada, se almacena en densos gránulos secretorios a nivel del aparato de Golgi, sobre la que actúa la enzima tiol proteasa, transformándose en renina activa. La segunda ruta es de tipo constitutiva, en la cual, la prorenina una vez sintetizada, inmediatamente se libera. Aunque de forma genérica la bibliografía muestra la inactividad del precursor,

existen especulaciones sobre un cierto grado de actividad biológica (Sealey y Rubattu, 1989; Ganong, 1995; Sealey y cols., 1996).

El espacio periarterial conectivo laxo que rodea a las arteriolas e incluye a los linfáticos, es de trascendental importancia fisiológica para la liberación de ambas formas a la circulación sistémica (Vallotton, 1987; Reid, 1998).

Determinados estudios experimentales han establecido que la renina inactiva puede ser activada in vitro tras la adición de diversas sustancias hormonales y enzimáticas como, toninas, calicreínas, plasminas, catepsinas y elastasas (Vincent y cols., 2002). Esta aparente inespecificidad de sustrato y la posibilidad de obtener renina activa por diversas vías aseguran el sistema de producción. La proporción de renina inactiva, en sus dos formas, almacenada y secretada, es 2 a 5 veces superior a la de renina activa (Schalekamp y cols., 1993).

La renina es heterogénea, se han aislado entre 5 y 8 isoformas activas de la misma. Esta heterogeneidad isoeléctrica parece ser debida al grado de glicosilación proteica, y determina la circulación a nivel de las células yuxtglomerulares y el grado de depuración hepática de la renina plasmática (Katz y Marvin, 1993).

Si bien el riñón continúa siendo el principal órgano productor de renina, el empleo de técnicas de biología molecular e inmunología, ha puesto de manifiesto que la mayoría de los componentes del SRAA se expresan, en grado variable, en diferentes tejidos, como glándulas salivares, útero, testículos, adrenales, vasos sanguíneos y cerebro (Pandey y cols., 1984; Dzau, 1988; Hagemann y cols., 1993; Yoshimura, 1997; O'Mahony y cols., 2000). Parte de la renina que se encuentra en plasma, riñón, útero y líquido amniótico corresponde a la renina inactiva y puede ser activada in vitro mediante tratamientos con frío en medio ácido o determinadas enzimas (Carr y Gant, 1983; Van den Eijnden y cols., 2001).

La concentración de renina plasmática hace referencia a la medida de la cantidad de renina en plasma y de sustrato exógeno estándar. La actividad de la renina plasmática es el promedio de las múltiples formas presentes y se refiere a la velocidad de formación de angiotensina en el plasma mediante incubación a 37°C y pH 7,5 tras la desaparición de la enzima. La medida refleja la actividad de la enzima in vivo y es dependiente de la cantidad de enzima y sustrato presente en el plasma (Symonds, 1976). En caballos adultos sanos se han mostrado valores basales de actividad de la renina plasmática comprendidos entre  $0,16 \pm 0,02$  (Guthrie y cols., 1980) y  $1,9 \pm 1,0$  ng/ml/h (McKeever y cols., 1992).

El control de la secreción de renina a nivel renal condiciona la actividad y funcionamiento del SRAA. Existen diversos mecanismos implicados en el control de la secreción de renina. Las células yuxtaglomerulares del riñón y la mácula densa constituyen el aparato yuxtaglomerular del riñón. Ambas estructuras por si solas, o en combinación con otras están implicadas en la liberación de renina renal. Así, el aparato yuxtaglomerular incluye un mecanismo baroreceptor que capta el déficit de perfusión renal (Skinner y cols., 1964; Davis y Freeman, 1976; Hackenthal y cols., 1990). Además, la mácula densa también regula la liberación de renina en virtud a la disminución de la concentración de sodio. Asimismo, el aparato yuxtaglomerular está inervado por fibras nerviosas simpáticas, de forma que la estimulación nerviosa resulta en un incremento de la secreción de renina (Hackenthal y cols., 1990; Cunningham, 2003).

De forma sinérgica, la secreción de renina está condicionada por la acción de la angiotensina II, que inhibe la liberación de renina mediante un mecanismo feedback negativo (Reid, 1998). Así, en determinadas situaciones clínicas y experimentales, como pérdida de sangre o depleción de sodio (McKenzie y cols., 1966), se estimula la secreción de angiotensina II y en consecuencia, la liberación de aldosterona. La aldosterona a nivel renal incrementa la reabsorción de sodio y de fluidos, inhibiendo al mismo tiempo la liberación de renina. Estos mecanismos de respuesta de forma combinada, ayudan a restaurar el volumen de líquido extracelular y por tanto, la presión sanguínea (Reid, 1998; Cunningham, 2003).

Procesos traumáticos como, el parto, la cesárea o determinadas técnicas laparoscópicas también conducen a la liberación de renina (McKenzie y cols., 1967; Broughton Pipkin y cols., 1974, a). De forma contraria, cuadros de hipercalcemia e hipoxemia conllevan a la disminución de la liberación de renina (Boddy y cols., 1974).

#### **2.2.1.1.2.-ANGIOTENSINÓGENO**

El angiotensinógeno es una  $\alpha_2$  globulina circulante en el plasma, sobre la que actúa la renina, dando lugar a la síntesis de angiotensina I. Se trata de un tetradecapéptido sin actividad fisiológica destacada, que rápidamente se transforma en angiotensina I. Aunque no se conoce con exactitud, es posible que exista más de una forma del sustrato de renina o angiotensinógeno (Eggena y cols., 1976). Si bien esta proteína es producida en el hígado, otros tejidos que secretan angiotensina II también sintetizan angiotensinógeno como, riñón, cerebro, corazón, pituitaria y tejido adiposo (Broughton Pipkin, 1984; Dzau, 1988; Yoshimura, 1997; Maremoto, 2002; Cunningham, 2003).

En condiciones normales, la secreción de sustrato es constante y en el hígado no aparecen depósitos significativos. Se han descrito valores medios de  $0,69 \pm 0,10$   $\mu\text{g/ml}$  de angiotensinógeno en condiciones fisiológicas en équidos (Forhead y cols., 2000). La concentración de angiotensinógeno limita la velocidad de la síntesis de angiotensina, y por tanto, la efectividad biológica del SRAA (Cunningham, 2003).

Entre los mecanismos que estimulan la producción de angiotensinógeno se citan la acción de los estrógenos, glucocorticoides y hormonas tiroideas. De esta forma, el síndrome de Cushing determina un incremento de la concentración de angiotensinógeno (Reid, 1998). También, se han mostrado niveles elevados durante la gestación y de forma contraria, aparecen deprimidos en procesos de insuficiencia adrenal (Reid, 1998; Krämer, 2004).

#### **2.2.1.1.3.-ANGIOTENSINA I**

La angiotensina I es un decapeptido producto de la acción de la renina sobre el angiotensinógeno. Presenta actividad fisiológica limitada. Cuando la enzima ECA permanece inhibida, puede ejercer acciones similares a la angiotensina II, pero muy inferiores en cuanto a sus efectos vasoconstrictores. Se han estimado rangos de 0,5-2,5 ng/ml de angiotensina I en el caballo (Guthrie y cols., 1980). Se sabe que la secuencia de aminoácidos de la angiotensina I equina es idéntica a la de humanos (Arakawa y cols., 1967). Este hecho sugiere similitud de los receptores y lugares de unión y por tanto, podría esperarse un grado de respuesta similar en ambas especies.

#### **2.2.1.1.4.-ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA (ECA)**

La enzima de conversión de angiotensina (ECA) o convertasa es una dipeptidil carboxipeptidasa poco específica, que inactiva a la bradiquinina y favorece la conversión del decapeptido, angiotensina I en el octapeptido, angiotensina II (Erdős, 1976; Reid, 1998; O'Connor y cols., 2002; Skidgel y Erdős, 2004).

Existen dos formas enzimáticas: una secretora, a nivel plasmático y otra tisular, alojada en las células endoteliales del pulmón, lugar donde se produce la mayor tasa de conversión a angiotensina II (Bakhle y cols., 1969) y en las células epiteliales del túbulo contorneado proximal, distal y del glomérulo renal. En el plasma la actividad de la ECA es limitada, siendo su proporción inferior al 10% (Erdős, 1976; Dzau, 1988; Dzau y cols., 2001; Krämer, 2004).

La ECA también actúa sobre otros sustratos, ampliando sus funciones en diferentes aspectos fisiológicos como, metabolismo neuronal, hematopoyesis, digestión y reproducción. A tal fin, la distribución en el organismo es amplia, detectándose en plasma, intestino, riñón, corazón, pulmón, cerebro, testículo, ovario y en general, en todo el lecho vascular (Pandey y cols., 1984; Campbell, 1987; Tillman y Moore, 1989; Erman y cols., 1991; Ball y cols., 2003; O'Connor y cols., 2002; Coomer y cols., 2003; Krämer, 2004). En el feto equino, se ha mostrado que la liberación prematura de la ECA a nivel pulmonar, podría estar condicionada por el aumento de cortisol cercano al parto, indicando a su vez el grado de maduración del SRAA (O'Connor y cols., 2006).

En caballos adultos sanos se han mostrado valores medios de ECA de  $64 \pm 13$  (Tillman y Moore, 1989) y en ponis de  $43 \pm 4 \mu\text{l}$  (Forhead y cols., 2000). Estos valores medios son inferiores a los documentados en el hombre ( $86-103 \mu\text{l}$ ) (Ryan y cols., 1977; Kaplan y cols., 1984) y animales de experimentación ( $170-191 \mu\text{l}$ ) (Kaplan y cols., 1984). Es interesante destacar la asociación entre la escasa actividad de la ECA y los bajos niveles de actividad de la renina plasmática documentados en el caballo en condiciones normales, respecto al resto de especies (Guthrie y cols., 1982).

Bajo ciertas condiciones patológicas, como endotoxemia, los valores medios de ECA disminuyen ( $54 \pm 17 \mu\text{l}$ ) (Tillman, 1987), indicando por un lado, la reducción en la liberación a partir del endotelio pulmonar, extravasación de la enzima hacia el compartimento intersticial debido al incremento de la permeabilidad vascular, y por otro lado, modificaciones en la actividad enzimática local.

#### **2.2.1.1.5.-ANGIOTENSINA II**

La angiotensina II es un octapéptido procedente de la actuación enzimática de la ECA sobre la angiotensina I. Su vida media en circulación periférica es corta, aproximadamente de dos minutos (Vinson y cols., 1997). Se trata de un potente vasoconstrictor, que inactiva la degradación de la bradiquinina, componente de actividad vasodilatadora. Ambos procesos colaboran de forma directa en la regulación del tono vascular y la función cardíaca (Andersson y cols., 1987; Cunningham, 2003).

Existen otras rutas alternativas que transforman la angiotensina I en angiotensina II y que no requieren de la presencia de ECA. Entre ellas se citan la participación de enzimas del tipo quimasas, angiotensinasas, catepsinas, endopeptidasas y toninas entre otras. La amplia distribución celular y regional de este tipo de enzimas, principalmente a nivel cardíaco y vascular, indican la implicación de la angiotensina II en los distintos

procesos fisiopatológicos (McDonald y cols., 2001; Miyazaki y Takai, 2001; Nishimoto y cols., 2001; Chen y cols., 2002; Katugampola y Davenport, 2002).

Estas enzimas anteriores actúan sobre la angiotensina II dando lugar a fragmentos parcialmente activos denominados heptapéptidos. Concretamente, la angiotensinasa se presenta en plasma, glóbulos rojos y otros tejidos orgánicos. Su función principal es la captación e hidrólisis de angiotensina II a angiotensina III. Se ha mostrado un incremento de la actividad de la angiotensinasa durante el segundo periodo en gestaciones normales (Berger y Langhans, 1967; Tapia y cols., 1972), en las cuales la placenta podría ser el órgano de síntesis (Berger y Langhans, 1967). La angiotensina IV, procede de la acción de determinadas aminopeptidasas sobre la angiotensina II (Yamamoto y cols., 1992; Santos y cols., 1992). A diferencia de los péptidos anteriores, la angiotensina (1-7) deriva de la actuación de diversas endopeptidasas sobre angiotensina I (Ferrario y cols., 1998).

La angiotensina III posee la mitad de la actividad vasoconstrictora de la angiotensina II y es un potente estimulador de la secreción de aldosterona. Se considera la molécula efectora más importante en el control de la presión arterial a nivel cerebral (Khasla y cols., 1974). La angiotensina IV tiene una relación especial con la memoria y otras funciones a nivel cerebral (Broughton Pipkin, 1984; Harding y cols., 1992; Urata y cols., 1996). La angiotensina (1-7) presenta efectos vasodilatadores, no es dipsogénico, ni estimulador de la secreción de la aldosterona (Ferrario y cols., 1998).

La angiotensina II está considerada como un potente vasoconstrictor de la economía orgánica, 40 veces más potente que la noradrenalina. Sus receptores se encuentran ampliamente repartidos en el organismo, aunque los órganos blanco fundamentales son el riñón, glándulas adrenales, sistema nervioso central y periférico, y vasos sanguíneos (Zhuo y cols., 1999; Van Rodijnen y cols., 2002). Existen otras fuentes locales de angiotensina II, se trata de mecanismos de tipo paracrino local. También se ha aislado en determinados estados patológicos, como tumores productores de renina (Mulrow, 1992; Hagemann y cols., 1994; Costa y cols., 2003; Ducret y cols., 2005).

El nivel de complejidad de las funciones del SRAA y concretamente de la angiotensina II, viene determinado por la amplia distribución de los distintos tipos de receptores con los que interacciona. Dichos receptores se localizan tanto a nivel sistémico como tisular y son de dos tipos, AT1 y AT2 (Wong y Uchendu, 1990; Vinson y cols., 1997). La distribución de ambos tipos de receptores es altamente heterogénea, reflejando las diferencias esenciales en sus funciones. La mayoría de las funciones fisiológicas atribuidas a la angiotensina II parecen ser mediadas vía receptor AT1, a través del cual

desarrolla sus efectos agonistas como vasoconstricción, osmorregulación y proliferación celular. Este tipo de receptor se expresa en las glándulas suprarrenales, cerebro, riñón, músculo liso vascular y corazón (Wong y Uchendu, 1990; Bottari y cols., 1993; Timmermans y cols., 1993; Zhuo y cols., 1999; Van Rodijen y cols., 2002; Alwan y cols., 2005).

El receptor AT2 a nivel celular ejerce acciones totalmente opuestas al receptor AT1. Los efectos son básicamente supresores, vasodilatadores, inhibición del crecimiento celular, natriuréticos, participan en la regeneración nerviosa, y son proapoptóticos, ejerciendo una respuesta de tipo protectora (McEwan y cols., 1996; Yamada y cols., 1996; Henrion y cols., 2001).

La inhibición del SRAA es una actuación terapéutica bien establecida en el manejo de la hipertensión y la prevención de la morbilidad y mortalidad cardiovascular. Los inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina y los bloqueantes de los receptores de angiotensina AT1 disminuyen los efectos de la angiotensina II ligada a receptores AT1, terapia altamente exitosa en este tipo de patologías (Davis y cols., 2002; Gardner y cols., 2004; Soler-Soler, 2006). Entre los numerosos beneficios potenciales en pacientes con patología cardiovascular se citan, atenuación de los efectos presores mediados por el receptor AT1, reversión del remodelamiento cardiaco producido por la hipertensión y protección de órganos blanco, principalmente riñón (Soler-Soler, 2006).

#### **2.2.1.1.5.1.-EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA ANGIOTENSINA II**

Una vez la angiotensina II se une al receptor específico se desencadenan diversos efectos a nivel sistémico y tisular, que conllevan al control de la homeostasis hidroelectrolítica. A continuación se describen sus funciones principales (Peach, 1977; Zhuo y cols., 1999; Van Rodijen y cols., 2002; Cunningham, 2003; Krämer, 2004):

##### **2.2.1.1.5.1.1.-A NIVEL RENAL**

Los principales efectos de la angiotensina II sobre el riñón han sido analizados como causas posibles en el desarrollo de la enfermedad hipertensiva (Hall y cols., 1999):

- a) Acciones vasculares renales: La angiotensina II a nivel preglomerular (arterias interlobares, interlobulares y arteriola aferente) y postglomerular (arteriola eferente) produce vasoconstricción, reduciendo el flujo renal. De la resultante de la constricción entre arteriolas aferente y eferente, la tasa de filtración glomerular podrá aumentar, no modificarse o disminuir. De forma general, como el tono

eferente predomina, la tasa de filtración glomerular aumenta. También, se ha mostrado que este péptido estimula el crecimiento de la pared de los vasos sanguíneos, conduciendo a la disminución de la luz a nivel de la vasculatura renal (Reid, 1998; Sun, 2002; Barber y Barber, 2003; Cunningham, 2003).

- b) Acciones glomerulares: la angiotensina II induce vasoconstricción preferencial de la arteriola eferente, favoreciendo el aumento de la presión intraglomerular y la permeabilidad a las proteínas (Barber y Barber, 2003; Cunningham, 2003). En la barrera de filtración se produce el depósito de fibronectina, laminina y colágeno, conduciendo a la reducción de la filtración (Fawcett, 1997; Schiepati y Remuzzi, 2003).
- c) Acciones mesangiales glomerulares: a nivel mesangial la angiotensina II ocasiona efectos como, inducción de la liberación de citoquinas, activación macrofágica, proliferación de células mesangiales y la formación de matriz mesangial, disminuyendo la superficie total de filtración glomerular (Fawcett, 1997; Barber y Barber, 2003; Cunningham, 2003).
- d) Acciones tubulares: la angiotensina II a través de sus receptores situados a nivel del epitelio tubular, concretamente en el túbulo contorneado proximal y el segmento grueso de la rama ascendente del asa de Henle provoca un mecanismo dosis dependiente. Así, cuando la concentración de angiotensina II disminuye, se produce retención de sodio y agua, mientras que dosis elevadas evocan diuresis y natriuresis (Broughton Pipkin y Symonds, 1977; Guyton y Hall, 1996; Marunaka, 1997). Desde el punto de vista fisiopatológico, la incapacidad para responder adecuadamente a la angiotensina II y a los mecanismos glomérulo-tubulares de la homeostasis del sodio, puede conllevar a aumentar los niveles sistémicos de angiotensina II y consecuentemente, al desarrollo de hipertensión arterial (Ganong, 1995).

Según Broughton Pipkin y Symonds (1977), la interacción entre la angiotensina II y determinadas prostaglandinas de tipos A y E podría ser responsable de las modificaciones en el flujo renal y uterino durante la gestación.

#### **2.2.1.1.5.1.2.-A NIVEL DE LA CORTEZA ADRENAL**

La acción fundamental de la angiotensina II a nivel de la corteza adrenal es promover la síntesis y liberación de aldosterona, en estados de hipovolemia o hiponatremia. La aldosterona actúa a nivel renal, concretamente sobre el túbulo contorneado distal y colector, aumentando la reabsorción de sodio y excretando al



mismo tiempo potasio e hidrogeniones, si bien, en menor medida. Este incremento de sodio crea un aumento de la osmolaridad plasmática, por lo que se desencadena la liberación de ADH, que retiene agua, potenciando las acciones vasoconstrictoras de la angiotensina II (Reid, 1998; Hall y cols., 1999; Cunningham, 2003).

### **2.2.1.1.5.1.3.-EFECTOS VASCULARES SISTÉMICOS**

La angiotensina II actúa directamente sobre las células vasculares arteriales, produciendo vasoconstricción y aumento de la resistencia periférica y de la presión arterial (d'Auriac y cols., 1972; Reid, 1998; Cunningham, 2003). A nivel arteriolar y de pequeñas arterias cumple una función trófica, con aumento del espesor de las paredes y reducción de la luz (Hall y cols., 1999). Laursen y cols. (1997) mostraron que la angiotensina II provoca una reacción inflamatoria en las células musculares vasculares, debido a la estimulación de citoquinas y activación de determinados factores nucleares.

A nivel intestinal la angiotensina II actúa como un potente agente vasoconstrictor del lecho vascular mesentérico, a pesar de la necesidad de un flujo sanguíneo aumentado durante la absorción intestinal. Este aparente antagonismo podría ser la causa de disfunción en determinados cuadros patológicos agudos abdominales (Sprouse y cols., 1987). Tanto la angiotensina II como la aldosterona incrementan la reabsorción de sodio y agua a nivel del intestino menor (Levens, 1985) y colon (Coghlan y Blair-West, 1967).

En el caballo, diversos estudios han descrito la implicación del SRAA en el desarrollo de la laminitis (Dzau, 1988; Lindpaintner y cols., 1988). La laminitis aguda es un proceso patológico causado por inflamación y necrosis de las estructuras laminares sensibles del casco. Esta necrosis se atribuye de forma primaria a la vasoconstricción de la microvasculatura laminar e hipertensión sistémica (Garner y cols., 1975; Clarke y cols., 1982). En determinadas situaciones de laminitis severa, se ha documentado incremento de la concentración de renina y de la actividad de la renina plasmática asociada a sobrecarga de hidratos de carbono, disminución del volumen plasmático, hipocalcemia e incremento de la concentración plasmática de aldosterona (Hood y cols., 1993).

#### **2.2.1.1.5.1.4.-A NIVEL CARDÍACO**

A nivel de la circulación coronaria, la angiotensina II produce vasoconstricción, sobre todo en respuesta a lesiones, y potencia el efecto de las catecolaminas, pudiendo ser responsable de las arritmias durante procesos isquémicos o de reperfusión. A nivel del cardiocito es inotrópico débil, y el responsable más importante de la hipertrofia cardíaca (Hall y cols., 1999; Cunningham, 2003; Cingolani y cols., 2006).

#### **2.2.1.1.5.1.5.-A NIVEL CEREBRAL**

Los efectos presores de la angiotensina II también se producen a nivel cerebral y del sistema nervioso autónomo (Reid, 1998). A nivel cerebral, la angiotensina II induce tres acciones conocidas, aumento de la sed (acción dipsogénica), estimulación simpática central y aumento de la liberación de ADH. También se le ha atribuido un papel como agente neurotransmisor o modulador (Hall y cols., 1999; Cunningham, 2003).

#### **2.2.1.1.5.1.6.-SISTEMA NERVIOSO**

Existen receptores de angiotensina II en el sistema nervioso simpático, tanto a nivel pre como post-sináptico. A nivel periférico, la angiotensina II facilita la transmisión simpática, incrementando la liberación e inhibiendo la recaptación de norepinefrina a nivel de las terminaciones nerviosas adrenérgicas, aumentando por tanto, la reactividad del músculo liso vascular a la norepinefrina (Reid, 1998). También, potencia la liberación y los efectos constrictores de determinados neurotransmisores, como la noradrenalina y favorece la liberación de vasopresina, potenciando sus efectos vasoconstrictores (Hall y cols., 1999).

Debido al efecto catabólico de la angiotensina II, se ha asociado a fenómenos de anorexia central y disminución de peso (Berry y Clark, 2000).

#### **2.2.1.1.5.1.7.-PIEL**

La angiotensina II posee efectos mitógenos a nivel de las células vasculares y cardíacas. Igualmente, estimula la síntesis de colágeno e induce fenómenos de hipertrofia en las células musculares lisas vasculares. También, favorece los

fenómenos de reparación tisular, actuando sobre la proliferación fibroblástica (Brilla y cols., 1995; Reid, 1998).

#### **2.2.1.1.6.-ALDOSTERONA**

La aldosterona es un mineralocorticoide de tipo esteroideo secretado por las células de la zona glomerulosa de la corteza adrenal. Posee el 95% de la actividad mineralocorticoidea adrenal total. Circula en sangre en forma libre o bien unida a proteínas y se metaboliza a nivel renal y hepático (Harris, 1993; McKeever y Hinchcliff, 1995; McKeever y cols., 2002; McKeever y Gordon, 2004). Aunque las referencias que detallan el análisis comparativo estructural no están disponibles en la literatura, se conoce que la estructura química de la aldosterona en el caballo es idéntica a la del hombre (Michaux y cols., 1987; Harris, 1993) por lo que cabe esperarse una funcionalidad similar en ambas especies.

La aldosterona se sintetiza fundamentalmente vía adrenal. No obstante, existen otros tejidos capaces de sintetizar angiotensina II y aldosterona mediante sistemas paracrinós a nivel cardíaco, vascular y cerebral (Harris, 1993).

La producción de aldosterona está regulada por varios factores, alguno de los cuales estimulan y otros inhiben la síntesis. Entre los factores estimulantes de la síntesis de aldosterona se citan la hormona adrenocorticotropa (ACTH) y las concentraciones de sodio, potasio y renina plasmáticas (McKeever y cols., 1992; Guyton y Hall, 1996; Bentley-Lewis y cols., 2005). La ACTH es uno de los estímulos más potentes para la liberación de aldosterona (Kojima y cols., 1985, a; Brown y cols., 1995; Cunningham, 2003).

El potasio estimula la secreción de aldosterona directamente a nivel de la membrana de las células de la glomerulosa de la corteza adrenal, causando la despolarización y aumento de la entrada de calcio y AMPc a nivel intracelular (Kojima y cols., 1985, b; Lindheimer y cols., 1987; Cunningham, 2003).

El sistema renina angiotensina es el factor más importante en el control de la secreción de aldosterona (Cunningham, 2003). Las células mioepiteliales yuxtglomerulares encargadas de la liberación de renina son sensibles a la presión, y liberan sustrato cuando la presión en la arteria aferente disminuye. La renina actúa sobre el angiotensinógeno, generando angiotensina I. La angiotensina I sirve como sustrato a la ECA, convirtiéndola en angiotensina II, que actúa a través del receptor AT1, provocando la entrada de calcio, y activa la fosfolipasa C, la cual hidroliza el fosfatidilinositol 4,5 bis-fosfato a inositol-1,4,5-trifosfato (IP3) y diacilglicerol. A nivel del retículo endoplásmico, el

IP3 estimula la liberación de calcio al citoplasma, y la bomba de calcio a nivel de la membrana celular, proceso responsable del inicio de la secreción de aldosterona. El diacilglicerol se moviliza a la membrana celular y junto con el calcio, activa la enzima C quinasa, manteniendo la sensibilidad del calcio, y la secreción sostenida de aldosterona (Kojima y cols., 1985, a; Zambraski, 1990; Cunningham, 2003).

Además de los factores mencionados, existen otras hormonas que modulan la secreción de aldosterona como, serotonina (Haning y cols., 1970) y péptidos derivados de la proopiomelanocortina (POMC) (Pedersen y cols., 1980; Vinson y cols., 1980; Matsuoka y cols., 1981). Entre los factores inhibidores se citan principalmente, la dopamina (Carey y cols., 1980; North y cols., 1980; García-Robles y cols., 1984) y determinados péptidos natriuréticos (Atarashi y cols., 1984; Cozza y cols., 1993).

En équidos adultos sanos los valores basales de aldosterona oscilan entre 6 y 82 pg/ml, con una media de  $48 \pm 16$  pg/ml (McKeever y cols., 1992). Guthrie y cols. (1980) mostraron valores medios de aldosterona comparables a los de humanos en dietas de 100 mEq/l de sodio, estimando un rango de 48,50 y 287,56 pg/ml. Más recientemente, se han presentado aldosteronemias superiores en caballos de resistencia en reposo (Michaux y col., 1987; Schott y cols., 1997; Martínez y cols., 2001; Bataller, 2006; Muñoz y cols., 2007) y potros PRE menores de un año (Rovira, 2007).

Como se ha descrito con anterioridad, el SRAA tiene implicaciones importantes directas a nivel orgánico, en el que la aldosterona juega un papel importante en el mantenimiento del volumen sanguíneo y la presión arterial (Sojka y Levy, 1995; Willmore y Costill, 1994; Cunningham, 2003). La descompensación de los mecanismos de síntesis conlleva al desarrollo de patologías graves, como insuficiencia cardíaca y síndrome hipertensivo, entre otros (Weber, 2001; Bédard y cols., 2004; Beygui y cols., 2006).

Los principales efectos fisiológicos atribuidos a la aldosterona, se describen a continuación (Guyton y Hall, 1996; Cunningham, 2003):

#### **2.2.1.1.6.1.-EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA ALDOSTERONA**

##### **2.2.1.1.6.1.1-A NIVEL RENAL Y CIRCULATORIO**

**a) Reabsorción tubular de sodio y secreción de potasio.** A nivel del túbulo colector y distal, principalmente, la aldosterona se difunde pasivamente al interior. Una vez en el citoplasma celular, se combina con una proteína receptora altamente específica. Este complejo aldosterona-receptor, penetra por difusión hacia el interior del núcleo, donde sobre determinadas porciones de ADN, inducirá la formación de ARNm, que de forma

conjunta con los ribosomas, activa la síntesis proteica relacionada con el transporte de sodio y potasio. Estas proteínas formadas contienen enzimas de transporte de membrana, necesarias para el intercambio de sodio, potasio e hidrogeniones a través de la membrana celular (Guyton y Hall, 1996).

Una de las enzimas implicadas es la sodio-potasio-adenosin trifosfatasa, parte integrante de la bomba sodio-potasio a nivel de las membranas basolaterales de las células tubulares renales (Guyton y Hall, 1996; Mulrow y Franco-Saenz, 1996). De esta forma, la aldosterona favorece la conservación de sodio en el líquido extracelular (LEC), excretando al mismo tiempo potasio e hidrogeniones a nivel urinario (Willmore y Costill, 1994; Sojka y Levy, 1995; Guyton y Hall, 1996; Cunningham, 2003).

**b) Volumen de líquido extracelular y tensión arterial.** Aunque la aldosterona posee un potente efecto reductor de la excreción de sodio a nivel renal, la concentración en el LEC se eleva muy poco. Este mecanismo se debe a que cuando el sodio es reabsorbido a nivel tubular, existe una reabsorción osmótica simultánea de cantidades casi equivalentes de agua. Por tanto, el volumen de LEC aumenta casi tanto como el de sodio retenido, conduciendo a un incremento de la tensión arterial (Guyton y Hall, 1996).

Cuando la secreción de aldosterona es nula, se pierden elevadas cantidades de electrolitos por la orina, lo cual disminuye la cantidad de cloruro sódico y el volumen de LEC, incrementándose al mismo tiempo la concentración en plasma de iones potasio. El resultado final es la deshidratación intensa del LEC y la disminución del volumen sanguíneo, pudiendo provocar shock circulatorio. Cuando la elevación de la concentración de iones potasio supera el 60% por encima de los valores fisiológicos, se hacen evidentes signos de toxicidad cardiaca, con debilidad de la contracción miocárdica y aparición de arritmias, las cuales sostenidas a lo largo del tiempo, conducen a insuficiencia cardiaca (Guyton y Hall, 1996).

La pérdida urinaria excesiva de iones potasio debido al exceso de aldosterona, produce una disminución importante de la concentración plasmática de potasio (hipocalemia). Cuando la concentración de iones potasio desciende a menos de la mitad o a la tercera parte de los niveles fisiológicos, a menudo aparece debilidad muscular intensa, causada por la alteración de la excitabilidad eléctrica de las membranas de las fibras nerviosas y musculares, la cual impide la transmisión de los potenciales de acción normales (Guyton y Hall, 1996).

**c) Secreción tubular de hidrogeniones.** Aunque la aldosterona origina principalmente excreción de potasio en intercambio con la reabsorción de sodio a nivel tubular, también

produce secreción tubular de hidrogeniones, conduciendo a un cierto estado de alcalosis leve (Guyton y Hall, 1996).

#### **2.2.1.1.6.1.2-GLÁNDULAS SUDORÍPARAS Y SALIVALES**

En humana, la aldosterona posee los mismos efectos sobre las glándulas sudoríparas y salivales, que sobre los túbulos renales. Ambos tipos de glándulas forman una secreción primaria que contiene elevadas cantidades de cloruro sódico. Gran parte de estas secreciones se reabsorben al pasar por los conductos excretores, mientras que los iones potasio y bicarbonato se excretan (Collins, 1966).

El efecto sobre las glándulas sudoríparas es importante para la conservación de las sales orgánicas en ambientes cálidos. Sobre las glándulas salivares, la aldosterona favorece la retención de electrolitos en situaciones de pérdida excesiva de saliva, como se ha demostrado en la glándula parótida en la oveja (Blair-West y cols., 1964; Guyton y Hall, 1996).

Hasta la actualidad, los mecanismos hidroelectrolíticos de regulación a nivel de las glándulas sudoríparas dependientes de aldosterona no han sido analizados en el caballo, aunque se supone que el elevado contenido de sodio en el sudor equino, podría indicar una falta de respuesta a la aldosterona por parte de las glándulas sudoríparas (Jansson y cols., 2002). De hecho, estos mismos investigadores administraron aldosterona de forma experimental a un grupo de caballos y observaron una reducción de la pérdida de sodio tanto en heces como en orina, aunque no en el sudor.

#### **2.2.1.1.6.1.3.-ABSORCIÓN INTESTINAL**

La aldosterona también favorece la reabsorción de sodio a nivel intestinal, y más concretamente en colon (Clarke y cols., 1992; Willmore y Costill, 1994; McKeever, 2002). De hecho, Clarke y cols. (1988) mostraron que la aldosterona tiene un efecto eficaz sobre la excreción renal y colónica de potasio, que podría modular la hipercalemia postpandrial inducida por el elevado contenido en potasio de las dietas equinas. En ausencia de aldosterona, la absorción de sodio puede ser deficiente. El cloruro sódico y el agua no absorbidos producen a su vez diarrea, con la consiguiente mayor pérdida de electrolitos y deshidratación (Guyton y Hall, 1996).

### **2.2.1.2.-ACTIVIDAD DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA DURANTE LA GESTACIÓN**

El feto y la placenta inducen alteraciones endocrinas, con modificaciones en el metabolismo proteico, lipídico, glucídico y mineral, surgiendo simultáneamente cambios cardiovasculares derivados del crecimiento uterino y de su contenido. El aporte de sustancias esenciales para el crecimiento y el metabolismo fetal, así como la eliminación de productos de desecho, provienen del flujo sanguíneo uterino a través de las arterias uterinas y ováricas que perfunden el espacio intervelloso placentario, lugar en el que se lleva a cabo el intercambio metabólico con el feto (Howell-Fulton, 1973).

La participación del SRAA durante este periodo es de vital importancia para ajustar las necesidades cardiovasculares, hemodinámicas y hematológicas que impone la gestación y que influirán de forma directa sobre el correcto desarrollo del feto y sobre la viabilidad fetal. En este apartado de revisión bibliográfica se considerarán de forma independiente el efecto de la gestación sobre cada uno de los componentes del SRAA.

#### **2.2.1.2.1.-PRORENINA**

En la mujer, la prorenina plasmática aumenta 5-10 veces durante las primeras 10 semanas de gestación, coincidiendo con el pico hormonal de gonadotropina coriónica humana (HCG). Con posterioridad, los valores medios declinan paulatinamente hasta el momento del parto (Hsueh y cols., 1982; Derkx y cols., 1986; Gómez Ponce de León y cols., 2001). Aunque la prorenina se sintetiza fundamentalmente en las células yuxtglomerulares renales, existen otras fuentes extrarrenales durante la gestación, como el ovario, líquido folicular y placenta (Itskovitz y cols., 1987; Glorioso y cols., 1988; Vrtacnik-Bokal y cols., 2006). Se ha mostrado que la prorenina también se incrementa durante el pico de LH, coincidiendo con el momento de la ovulación (Glorioso y cols., 1988; Bokal y cols., 2005; Vrtacnik-Bokal y cols., 2006). De hecho, la administración combinada de (hormona luteinizante) LH y (hormona folículoestimulante) FSH, provoca un incremento del 390% de prorenina plasmática, mientras que la HCG incrementa este porcentaje, alcanzando cifras superiores al 1000% (Sealey y cols., 1985; Itzlovitz y cols., 1987). Se ha especulado que la prorenina podría actuar como una hormona de la reproducción, con funciones independientes de la renina activa (Sealey y cols., 1985).

Los niveles de prorenina descienden considerablemente en determinadas situaciones patológicas en la hembra reproductiva. Así, en mujeres con insuficiencia ovárica primaria y en preeclampsia severa, Derkx y cols. (1987) revelaron niveles de prorenina disminuidos en el segundo y tercer trimestre de la gestación.

### **2.2.1.2.2.-RENINA**

La mayoría de estudios de investigación realizados en diversas especies concluyen que durante la gestación, el SRAA permanece activo (Helmer y Judson, 1967; Skinner y cols., 1972; Tapia y cols., 1972; Catt y cols., 1974; Weinberger y cols., 1974; Weir y cols., 1975; Symonds y cols., 1976; Weinberger y cols., 1976; Weir y cols., 1976; Bay y Ferris, 1979; Wilson y cols., 1980; Carr y Gant, 1983; Brown y cols., 1987; Broughton-Pipkin, 1988; Fagundes y cols., 1992; Skinner, 1993; Langer y cols., 1998; Bentley-Lewis y cols., 2005).

La renina total circulante en sus dos formas, activa e inactiva se incrementa durante este periodo, en comparación con niveles postpartum (Brown y cols., 1963; Genest y cols., 1964; Winer, 1965; Helmer y Judson, 1967; Geelhoed y Vander, 1968; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Sullivan y Matrin, 1994; Gómez Ponce de León y cols., 2001). Sin embargo, la contribución de la renina fisiológicamente inactiva a la concentración plasmática total de renina es mayoritaria a la de renina activa (Symonds, 1976; Carr y Gant, 1983). Dichas observaciones quedaron patentes en los estudios de Skinner y cols. (1972; 1975). Estos investigadores observaron que la concentración de renina era superior a la actividad plasmática de la renina durante este mismo periodo, sugiriendo la existencia de la forma inactiva a nivel del líquido amniótico.

Estos niveles incrementados de renina (2-4 veces por encima de los valores basales) durante el primer tercio de la gestación (Helmer y Judson, 1967; Boonshaft y cols., 1968; Gordon y cols., 1969; 1973; Skinner y cols., 1972; Tapia y cols., 1972), alcanzan una meseta alrededor de los 5 meses y se mantienen hasta el final (Symonds, 1976; Bay y Ferris, 1979; Langer y cols., 1998), siendo responsables de la elevación de la actividad plasmática de la renina durante el primer (Sundsford y Aakvaag, 1970; Weinberger y cols., 1976) y segundo periodo, respectivamente (Weinberger y cols., 1976; Alhenc-Gelas y cols., 1986; August y cols., 1990; Skinner, 1993; Sullivan y Matrin, 1994; Bentley-Lewis y cols., 2005). Al final de la gestación, la concentración de renina disminuye considerablemente, aunque supera los niveles medios correspondientes a los estados de ingravidez (Katz y cols., 1973; Godard y cols., 1976; Carr y Gant, 1983). A pesar de ello, Maebashi y cols. (1964) no mostraron diferencias en los niveles de renina entre mujeres gestantes y no gestantes a término.

Diversos estudios de investigación determinaron que la elevada concentración de renina durante la gestación, podría contribuir en gran medida al grado de formación de angiotensina II (Brown y cols., 1963; Weir y cols., 1971; Skinner y cols., 1972; Laragh y Sealey, 1992). No obstante, en esta situación, la angiotensina II podría provocar la



disminución de la secreción de renina mediante un mecanismo feedback negativo (Geelhoed y Vander, 1968; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Broughton Pipkin y cols., 1987; Laragh y Sealey, 1992).

Aunque el incremento de la síntesis de renina tiene su origen en las células yuxtaglomerulares renales, principalmente (Weir y cols., 1971; Carr y Gant, 1983), existen otras fuentes no dependientes del riñón durante la gestación, como el útero, siendo éste el lugar de origen de la renina y responsable del incremento de la actividad plasmática de la renina (hiperreninemia de la gestación) (Helmer y Judson, 1967; Lindheimer y Katz, 1992; Skinner, 1993).

Cabe destacar que la renina a nivel de las membranas fetales y útero es predominantemente prorenina, y aunque puede ser liberada a la circulación materna, no se conoce el grado de contribución a los niveles plasmáticos periféricos (Symonds y cols., 1968; 1970; Symonds, 1981; Lenz y cols., 1991). No obstante, existen discrepancias al respecto entre los autores, ya que se ha mostrado la presencia de renina activa e inactiva a nivel uterino (Skinner y cols., 1968).

Así, en conejas gestantes nefrectomizadas, Gorden y cols. (1967) manifestaron que la renina activa era liberada a partir del útero a la circulación sistémica. También se ha identificado renina a nivel placentario y miometrial en la mujer y determinados animales de experimentación (Skinner y cols., 1968). A pesar de estas observaciones previas, la mayoría de estudios realizados en la mujer, reconoce al líquido amniótico como la principal fuente de renina durante la gestación (Brown y cols., 1964; Skinner y cols., 1968; Symonds y cols., 1968; Day y cols., 1975; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Symond, 1981). Se ha aislado prorenina, renina activa, ECA y angiotensina II tanto a nivel de corion como en la placenta (Kalenga y cols., 1996). La función de estos componentes no es conocida, aunque se especula que puedan participar en la regulación del flujo uterino durante la gestación y el parto (Alhenc-Gelas y cols., 1986).

La síntesis de renina a nivel fetal es fundamentalmente de origen renal, con cierta participación hepática (Tapia y cols., 1972; Wilson y cols., 1980; Alhenc-Gelas y cols., 1986). El riñón fetal secreta renina tras las primeras 20 semanas de gestación (Hodari, 1968; Molteni y cols., 1974). Algunos experimentos realizados en animales, sugirieron la escasa contribución de la renina fetal a los niveles periféricos maternos, debido a la incapacidad de la renina para atravesar la placenta (Gorden y cols., 1967; Broughton Pipkin y Symonds, 1977; Carr y Gant, 1983). Otras investigaciones por el contrario, mostraron la capacidad de la renina fetal para atravesar la placenta y la contribución de la

renina fetal a los niveles circulantes maternos (Brown y cols., 1966; Alhenc-Gelas y cols., 1986).

En la mujer, el incremento de los niveles de renina durante la gestación se ha relacionado con la pérdida de sales debida al incremento de la filtración glomerular y a la secreción de progesterona, agente antagonista de la aldosterona e inductor de natriuresis (Brown y cols., 1964; Ledoux y cols., 1975; Oparil y cols., 1975; Weir y cols., 1975; Weinberger y cols., 1977; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Sealey y cols., 1994; Oelkers, 2002; Jeyabalan y Conrad, 2007).

Además, se ha sugerido que el pico de renina durante la gestación está mediado por el efecto de los estrógenos sobre la producción de angiotensinógeno (Helmer y Judson, 1967; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Sealey, 1991; Sealey y cols., 1994; Oelkers, 2002). De hecho, la terapia contraceptiva en la mujer provoca un aumento del sustrato, de la concentración y de la actividad de la renina, decreciendo a los pocos días, tras el cese del tratamiento (Newton y cols., 1968; Oelkers, 2002). Al mismo tiempo, el incremento de renina favorece la síntesis de angiotensina II. Sin embargo, esta observación no siempre es cierta. Así, en perras gestantes, Robb y cols. (1970) mostraron la falta de correlación entre dichos parámetros, asociándose en ocasiones, una concentración de renina elevada a valores normales o bajos de angiotensina II. Estos mismos investigadores manifestaron que el secuestro de sodio y agua a nivel del contenido uterino durante la gestación, probablemente podría ser el agente desencadenante de la liberación de renina.

Asimismo, estudios más recientes han descrito que la concentración de renina plasmática decrece en mujeres postmenopáusicas sometidas a terapias con estrógenos (Mosca y cols., 1997; Roesch y cols., 2000). En primates y roedores el uso de este tipo de tratamientos conduce al declive de la actividad de la ECA, disminuye la expresión de los receptores AT1 en el músculo liso vascular, atenuando la respuesta vascular y renal a la angiotensina II (Nickenig y cols., 1998).

Como ocurre durante la gestación, el SRAA permanece activo en el momento del parto, siendo la renina el agente determinante de los cambios hemodinámicos que ocurren durante este momento (Godard y cols., 1976; Tetlow y Broughton-Pipkin, 1983; Tache y cols., 1985). La actividad contráctil de la vagina podría estimular la producción de renina y contribuir a elevar los niveles periféricos (Katz y cols., 1973; Godard y cols., 1976).

### **2.2.1.2.3.-ANGIOTENSINÓGENO**

La mayoría de las investigaciones realizadas en diversas especies animales han revelado que la gestación condiciona un incremento sustancial de los niveles de sustrato de renina (Gould y cols., 1966; Helmer y Judson, 1967; Weir y cols., 1971; Skinner y cols., 1972; Weir y cols., 1975; Weinberger y cols., 1976; Wilson y cols., 1980; Carr y Gant, 1983; Alhenc-Gelas y cols., 1986).

En la mujer, este aumento se produce durante las primeras semanas (Weir y cols., 1975; Alhenc-Gelas y cols., 1986), permanece elevado a lo largo de la gestación alcanzando valores máximos a término. Sin embargo, en ovejas se ha descrito un patrón bimodal de secreción, en el que el primer pico se produce al inicio de la gestación, y coincide con el periodo del máximo crecimiento placentario. El segundo pico ocurre al término de la gestación, momento en el que se alcanza el peso fetal máximo, sugiriendo la asociación entre angiotensinógeno plasmático y crecimiento fetal (Dandrea y cols., 2002).

Esta dinámica se asocia al efecto estimulador de los estrógenos a nivel hepático (Helmer y Judson, 1967; Symonds, 1976; Wilson y cols., 1980; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Tewksbury, 1990; Chen y cols., 1992; Gordon y cols., 1992; Chapman y cols., 1997; Chidambaram y cols., 2002; Oelkers, 2002). En la mujer, se ha descrito que durante el ciclo menstrual las concentraciones de prorenina y angiotensinógeno permanecen elevadas durante la fase folicular (Sealey y cols., 1987). Además, la expresión para la síntesis de renina se incrementa en ovario, útero y glándula adrenal tras tratamientos contraceptivos con estrógenos (Cain y cols., 1971; Jespersen y cols., 1983; Rubattu y cols., 1991; Oelkers, 1996). Estas afirmaciones ponen de manifiesto que tanto el angiotensinógeno como la renina se elevan en respuesta a los niveles estrogénicos en procesos fisiológicos cíclicos o tras tratamientos hormonales (Brosnihan y cols., 1999). Sin embargo, la relación existente entre las concentraciones de angiotensinógeno y estrógenos no siempre es positiva (Weir y cols., 1975; Weinberger y cols., 1977). De hecho, en mujeres no gestantes sometidas a tratamientos con estrógenos se ha descrito que la concentración de angiotensinógeno y angiotensina II aumentan en sangre, mientras que la concentración de renina tiende a decrecer debido al feedback negativo ejercido por la angiotensina II (Menard y Catt, 1973; Oelkers, 2002). Cabe destacar que este proceso no ocurre durante la gestación, y que la concentración de angiotensinógeno se acompaña de un incremento, más que un declive de los niveles de renina, sugiriendo la falta de control de la renina por parte de la angiotensina II (Alhenc-Gelas y cols., 1986).

#### **2.2.1.2.4.-ECA**

A pesar del marcado incremento de actividad de los componentes del SRAA durante la gestación (Skinner, 1993; Langer y cols., 1998; Bentley-Lewis y cols., 2005) determinados estudios realizados en la mujer (Parente y cols., 1979), y la rata (Van Dijk y cols., 2001) mostraron el declive progresivo de la actividad de la ECA durante la gestación hasta el momento del parto. Este tipo de respuesta podría ser consecuencia de la expansión del volumen plasmático y de la influencia hormonal presente en la hembra durante este periodo. De hecho, en animales ovariectomizados, Brosnihan y cols. (1999) manifestaron que el tratamiento con estrógenos reducía la actividad de la ECA y los niveles de angiotensina II tanto a nivel periférico como tisular.

#### **2.2.1.2.5.-ANGIOTENSINA II**

La gestación se caracteriza por una elevación sustancial de angiotensina II circulante (Gant y cols., 1973; Skinner y cols., 1975; Weir y cols., 1975; Symonds, 1981; Carr y Gant, 1983; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Alwan y cols., 2005; Bentley-Lewis y cols., 2005). De hecho, se ha observado en la oveja y la mujer, que la gestación duplica (Fleischman y cols., 1975; Dandrea y cols., 2002) e incluso triplica (Symonds, 1976; Van Dijk y cols., 2001) los niveles de angiotensina II, en comparación con hembras no gestantes.

Aunque los niveles de angiotensina II aumentan en ambas especies durante este periodo, la resistencia vascular y la presión sanguínea tienden a disminuir, para retornar lentamente a valores comparables con hembras no gestantes a término (Alhenc-Gelas y cols., 1986). Por tanto, la preñez podría ser protectora frente a los efectos perjudiciales de este péptido, debido a la disminución de la respuesta vascular (Gant y cols., 1976) y al efecto presor durante la gestación (Talledo y cols., 1968).

Se ha sugerido que estos cambios de sensibilidad podrían estar relacionados con el incremento de los niveles de angiotensinasas, que permanecen elevadas durante este periodo, y con la expansión del volumen plasmático, además de las modificaciones en las concentraciones de sodio, ya que en mujeres no gestantes se produce el efecto presor de la angiotensina II. Otra explicación razonable sería que los receptores para la angiotensina II podrían encontrarse totalmente ocupados, ya que en dichos casos, el grado de sensibilidad a la angiotensina II varía inversamente con los niveles existentes de este péptido (Gant y cols., 1976).

Tal vez, la función protectora más importante podría derivarse del efecto de las prostaglandinas. Estas sustancias de carácter vasodilatador producidas por el útero y

endotelio vascular principalmente, podrían equilibrar el efecto presor de la angiotensina II (Alhenc-Gelas y cols., 1986). De hecho, estudios realizados en conejas han mostrado que la prostaglandina E (PGE) disminuye notablemente la respuesta presora de la angiotensina II exógena y por el contrario, la depleción crónica de precursores de las prostaglandinas, resulta en un incremento marcado de la sensibilidad a la angiotensina II (O'Brien y cols., 1977). En cultivos de células lisas vasculares, la angiotensina II libera metabolitos del ácido araquidónico tales como las prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) (Leung y cols., 1992; Broughton Pipkin y Baker, 1997). En la mujer, la administración aguda de PGI<sub>2</sub> resulta en una disminución significativa de la respuesta vasopresora en el segundo trimestre de la gestación (Broughton Pipkin y cols., 1989). Otras explicaciones razonables podrían ser la síntesis de óxido nítrico, como agente vasodilatador (Best y cols., 1998) y el desequilibrio de los receptores AT<sub>1</sub> (Nickenig y cols., 1998), que se ponen de manifiesto bajo estimulación estrogénica, así como la activación de los receptores AT<sub>2</sub> (Chen y cols., 2007).

Hacia el momento del parto se establece una relación lineal positiva entre los niveles de angiotensina II maternos y fetales, a pesar de la incapacidad de la angiotensina II para atravesar la placenta (Broughton Pipkin y Symonds, 1977). Una cuestión interesante a resaltar es la influencia de la forma de parto sobre los niveles de angiotensina II. El parto con expulsión vaginal induce niveles superiores de angiotensina II a la cesárea. Entre otros factores que estimulan la síntesis de angiotensina II a término se citan, la duración del segundo estadio de labor, la aplicación de anestesia epidural o la utilización de forceps (Broughton Pipkin y Symonds, 1977).

#### **2.2.1.2.6.-ANGIOTENSINA (1-7)**

En la mujer, la angiotensina (1-7) se expresa en el sincitio trofoblástico vellosos placentario, citotrofoblasto invasor e intravascular, células deciduales, músculo liso de las vellosidades principales y endotelio fetal (Valdés y cols., 2005) y permanece elevada durante la gestación (Valdés y cols., 2000). La caracterización del perfil temporal de la angiotensina II y angiotensina (1-7) a lo largo de la gestación, sugiere que este estado reproductivo induce un incremento en la síntesis y liberación tanto de angiotensina vasoconstrictora como vasodilatadora, probablemente modulado por la acción de los estrógenos y la progesterona. Se ha mostrado que la angiotensina (1-7) posee efectos vasodilatadores directos e indirectos, mediados por las prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>), prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), óxido nítrico y bradiquinina (Valdés y cols., 2001). Por tanto, estos niveles elevados de angiotensina (1-7) también podrían contribuir a contrarrestar el

efecto presor de la angiotensina II durante este periodo (Benter y cols., 1995; Valdés y cols., 2001; Brosnihan y cols., 2004).

#### **2.2.1.2.7.-ALDOSTERONA**

Durante la gestación se produce un incremento de la secreción adrenal materna, en el que la acción de la aldosterona se hace indispensable para el mantenimiento de la expansión del volumen plasmático. Este estado de hipervolemia gravídica por una parte, favorece el desarrollo correcto de la barrera fetoplacentaria, y por otro lado, provee la cantidad adecuada de nutrientes al feto, mantiene la tensión de oxígeno ideal, y la presión sanguínea maternofetal (Demey-Ponsart y cols., 1982; Abou-Samra y cols., 1984; Jensen y cols., 2002).

Este incremento de la secreción de aldosterona se ha mostrado en la mujer (Jones y cols., 1959; Van de Wiele y cols., 1960; Watanabe y cols., 1963; Sims y cols., 1964; Weir y cols., 1971; Ehrlich y Lindheimer, 1972; Ehrlich y cols., 1976; Smeaton y cols., 1977; Oliver y cols., 1981; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Gallery y Brown, 1987; McCance y cols., 1990; Sullivan y Matrin, 1994; Bentley-Lewis y cols., 2005), en la perra (Robb y cols., 1970) y determinados animales de experimentación (Schneider y Mulrow, 1973; Wintour y cols., 1978; Demey-Ponsart y cols., 1982; Abou-Samra y cols., 1984; Garland y cols., 1987; Brochu y cols., 1996; 1997).

Este mecanismo de respuesta hormonal de la aldosterona podría ser debido al aumento de la sensibilidad adrenal a la renina y angiotensina endógena durante este periodo (Weir y cols., 1975; Godard y cols., 1976; Weinberger y cols., 1977; Wilson y cols., 1980; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Bentley-Lewis y cols., 2005).

Desde el punto de vista vascular, la gestación se caracteriza por un estado de insensibilidad a la angiotensina II (Gant y cols., 1987; Brown y cols., 1988; Broughton Pipkin y cols., 1989). Este tipo de respuesta disociada (adrenal y vascular) a la angiotensina II, también se ha observado en mujeres no gestantes sometidas a dietas con bajas cantidades de sal (Williams y cols., 1976). En este tipo de dietas, se incrementa la síntesis de angiotensina II y se activa la enzima aldosterona sintasa, dando lugar a la síntesis de aldosterona. Uno de los factores implicados en la activación de la aldosterona sintasa es el estradiol (Kau y cols., 1999), aunque se ha mostrado que la aplicación de terapias estrogénicas no siempre modifica la síntesis de aldosterona (Robb y cols., 1970). Esta consideración lleva a cuestionar la posible implicación de los estrógenos en la secreción de aldosterona por un mecanismo no dependiente de renina.

Asimismo, en perras, Robb y cols. (1970) y en ratas, Brochu y cols. (1997), relacionaron el incremento de aldosterona durante la gestación con la mayor actividad de la aldosterona sintasa y con la síntesis de ARNm a nivel de las células de la zona glomerulosa, lugar exclusivo de producción. De hecho, en la mujer, se ha descrito que la aldosterona es una hormona exclusivamente de origen adrenal, sin participación fetal y placentaria (Laidlaw y cols., 1958; Venning y cols., 1959; Carr y Gant, 1983).

Martin y Mills (1956) sugirieron que la estimulación de la síntesis de aldosterona durante la preñez podría ser compensatoria a la natriuresis inducida por la progesterona. De hecho, en mujeres gestantes, se ha documentado que la administración exógena de progesterona induce un aumento de la secreción de aldosterona, sin evidencias de natriuresis, ya que la progesterona desplaza a la aldosterona de sus lugares de unión (Sharp y Leaf, 1966). Asimismo, en determinadas situaciones de insuficiencia adrenal, la progesterona incrementa la excreción de sodio (Oelkers y cols., 1974) y en casos de muerte fetal, la aldosterona declina rápidamente, mientras que los niveles de progesterona permanecen elevados (Watanabe y cols., 1965). Cabe destacar que el antagonismo de ambos mineralocorticoides no parece ser un hecho consistente durante la gestación. Son difíciles de explicar sucesos como, la retención de sodio, la expansión del volumen materno extracelular sobre las bases del antagonismo de la aldosterona y la tendencia a la natriuresis durante la gestación (Sundsfjord, 1971; Smeaton y cols., 1977; Bay y Ferris, 1979). Se desconoce si la pérdida de sodio podría estimular los mecanismos compensatorios, ya que las concentraciones de este electrolito en orina son similares cuando se comparan estados de gravidez e ingravidez (MacGillivray, 1961). En estos casos, una alternativa posible sería la movilización de sodio desde el LEC materno al compartimento fetal (Rinsler y Rigby, 1957).

Durante el último tercio de gestación, la concentración de aldosterona circulante es máxima (Jones y cols., 1959; Watanabe y cols., 1963; Smeaton y cols., 1977; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Bentley-Lewis y cols., 2005), permaneciendo elevada también a nivel urinario (Kumar y cols., 1959; Venning y cols., 1959). En principio, la excreción urinaria podría reflejar el incremento de la síntesis adrenal. Sin embargo, este hecho no siempre sucede durante la gestación, ya que Watanabe y cols. (1963) no identificaron metabolitos de la aldosterona en la orina. No obstante, Jones y cols. (1959) mostraron un cierto grado de alteración del metabolismo hormonal adrenal durante este periodo.

Este incremento de la secreción de aldosterona al final de la gestación probablemente podría estar asociado con la secreción de angiotensina II a nivel sistémico, aunque no siempre se observa una relación directa entre ambos parámetros. Durante este periodo la aldosterona se opone al efecto natriurético de la progesterona a

nivel del túbulo distal, evita la pérdida de sodio e incluso permite la progresiva acumulación de sodio en el sector fetoplacentario y en los fluidos extracelulares maternos (Alhenc-Gelas y cols., 1986).

Hacia el momento del parto, la concentración de aldosterona adrenal fetal excede los niveles maternos. A pesar de ello, la transferencia de aldosterona a nivel transplacentario es mínima (Bayard y cols., 1970). Este incremento de los niveles de aldosterona fetal se asocia por un lado, con el aumento de sensibilidad de la corteza adrenal fetal a la angiotensina II (Chesley y cols., 1965), y por otro lado, al estímulo proveniente de la ACTH, debido al estrés de la labor en este momento (Beitins y cols., 1972; Katz y cols., 1973; Jensen y cols., 2002).

### **2.2.1.3.-INFLUENCIA DE LA EDAD SOBRE LOS COMPONENTES DEL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA**

La bibliografía referente a la evolución de los componentes del SRAA con la edad en équidos es escasa y controvertida. Así, mientras que Guthrie y cols. (1976) en el hombre y Guthrie y cols. (1980) en équidos mostraron una disminución de la actividad de la renina plasmática con la edad, Rovira (2007) no encontró modificaciones en la concentración de renina asociadas al crecimiento físico en potros PRE desde el nacimiento al año de edad.

En seres humanos se ha confirmado que hasta los 12 años de edad, la concentración plasmática de renina es significativamente superior a la de adulto, con valores máximos en niños menores de 4 años (Hayduk y cols., 1973; Sassard y cols., 1975; Hiner y cols., 1976). Otras investigaciones han descrito valores inferiores de la actividad de la renina en niños (Goldfarb y cols., 1981; Fiselier y cols., 1984), mientras que otros estudios no han hallado variaciones derivadas de la edad en la concentración plasmática de la renina (Harshfield y cols., 1993; Fukushige y cols., 1994).

Por otro lado, se ha mostrado una disminución de la actividad de la ECA con la edad en équidos (Coomer y cols., 2003), roedores (Costerousse y cols., 1994) y ovejas (Forhead y cols., 1997). Este tipo de respuesta se asocia con determinadas modificaciones hormonales acontecidas durante la pubertad (Coomer y cols., 2003).

La mayoría de estudios de investigación sugieren que la respuesta adrenal a la angiotensina II se reduce con la edad (Weidmann y cols., 1977; Guthrie y cols., 1980; Takeda y cols., 1980; Zozaya y cols., 1983; Tsunoda y cols., 1986; Rakotondrazafy y Brudieux, 1993; Kau y cols., 1999). De hecho, Vincent y cols. (1980) observaron valores plasmáticos de aldosterona notablemente superiores en niños que en adultos. Por el



contrario, en humanos (Fukushige y cols., 1994; Harshfield y cols., 1993; Thompson y cols., 2000) y équidos (Rovira, 2007), no se han verificado modificaciones en las concentraciones de aldosterona con la edad.

## **2.2.2.-CORTISOL**

El cortisol es una hormona secretada por las células de la zona fasciculata, principalmente y reticularis, de la corteza adrenal mediante la estimulación de ACTH (Nelson, 2000; Cunningham, 2003). Esta hormona participa activamente en el mantenimiento de la homeostasis en el individuo (Thornton, 1985; Willmore y Costill, 1994). De ahí que los mecanismos de actuación se produzcan a través de las principales rutas metabólicas.

### **2.2.2.1.-EFECTOS FISIOLÓGICOS DEL CORTISOL**

#### **2.2.2.1.1.-METABOLISMO**

##### **2.2.2.1.1.1.-METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS**

Las hormonas glucocorticoideas son mediadores esenciales del metabolismo (Cunningham, 2003). Al menos el 95% de la actividad glucocorticoidea de la secreción de la corteza adrenal procede del cortisol (Guyton y Hall, 1996). Al tratarse de un glucocorticoide, el cortisol desempeña funciones básicas a nivel del metabolismo energético, que se citan a continuación:

**1.-Estimulación de la gluconeogénesis hepática.** Esta circunstancia se produce por el incremento de la actividad de las enzimas gluconeogénicas e inhibición simultánea de las enzimas hepáticas insulina-dependientes (Friedman y cols., 1994; Guyton y Hall, 1996; Martin y Crump, 2003).

El efecto más conocido del cortisol y otros glucocorticoides sobre el metabolismo es su capacidad para estimular la gluconeogénesis, que consiste en la síntesis de glucosa a partir de proteínas y otras sustancias, como aminoácidos a nivel hepático. Con frecuencia, se incrementa la velocidad de la gluconeogénesis hasta seis e incluso hasta diez veces. El cortisol moviliza los aminoácidos desde los tejidos extrahepáticos, principalmente músculo esquelético. Como consecuencia, se dispone de mayor cantidad de aminoácidos a nivel plasmático para participar en el proceso de la gluconeogénesis hepática y por tanto, se favorece el aumento de los depósitos glucogénicos intrahepáticos (Guyton y Hall, 1996).

Igualmente, el cortisol provoca la estimulación de los efectos del glucagón y de la epinefrina sobre la disponibilidad de glucosa y la inhibición de los efectos de la insulina sobre el metabolismo energético (Martin y Crump, 2003). De ahí que se considere el efecto de los glucocorticoides sobre el metabolismo de los carbohidratos de tipo permisivo. Se hace necesaria su presencia para las acciones gluconeogénicas y glucogenolíticas del glucagón y de la epinefrina, respectivamente (Cunningham, 2003).

**2.-Reducción del consumo de glucosa a nivel celular.** El cortisol induce una reducción moderada del consumo de glucosa a nivel celular (Guyton y Hall, 1996), efecto que puede ser considerado como anti-insulínico (Cunningham, 2003). De esta forma, los niveles de glucosa sanguínea tienden a incrementarse debido a la inhibición que ejerce el cortisol sobre la translocación del transportador citosólico de glucosa GLUT-4 a la membrana celular, decreciendo la capacidad de utilización de la glucosa por los tejidos muscular y adiposo (Martin y Crump, 2003).

Otro de los posibles mecanismos que explican la menor utilización de la glucosa a nivel celular, se basa en la observación de que los glucocorticoides deprimen la oxidación de nicotinamida-adenina dinucleótido (NADH) para formar la forma reducida (NAD<sup>+</sup>). Dado que el NADH debe oxidarse para permitir la glucólisis, las células no podrían utilizarlo (Guyton y Hall, 1996).

Tanto el incremento de la velocidad de la gluconeogénesis como la reducción moderada de la velocidad de consumo de glucosa a nivel celular, dan lugar a un aumento marcado de la glucemia (Guyton y Hall, 1996).

#### **2.2.2.1.1.2.-METABOLISMO PROTEICO**

**1.-Reducción de las proteínas celulares.** Uno de los principales efectos del cortisol sobre los sistemas metabólicos es la disminución de las reservas proteicas en casi todas las células, excepto en las hepáticas (Guyton y Hall, 1996).

A nivel de los tejidos extrahepáticos, el efecto proteolítico resulta de la disminución en el transporte de aminoácidos hacia el interior de las células, así como la disminución de la síntesis de ácido ribonucleico (ARN) y por tanto de proteínas (Guyton y Hall, 1996). Este efecto aparece de forma marcada a nivel de los miocitos y también en las células de la piel, tejido conectivo y hueso. De hecho, se ha mostrado que en animales jóvenes, un exceso en la secreción de glucocorticoides frena el crecimiento. Dicho proceso, se debe fundamentalmente a la inhibición de la liberación de hormona del crecimiento, la cual es esencial para el desarrollo muscular así como para la diferenciación y funcionalidad celular (Martin y Crump, 2003).

**2.-Aumento de las proteínas hepáticas y plasmáticas.** A pesar de la reducción de proteínas a nivel celular, las proteínas hepáticas aumentan. Además, las proteínas sintetizadas por el hígado y liberadas posteriormente a la sangre, también se incrementan. Se cree que dicho mecanismo viene determinado por la acción favorecedora del transporte de aminoácidos al interior de las células hepáticas (Guyton y Hall, 1996; Martin y Crump, 2003) y por la estimulación de las enzimas hepáticas necesarias para la síntesis proteica (Guyton y Hall, 1996).

**3.-Aumento de los aminoácidos sanguíneos, disminución del transporte de aminoácidos a las células extrahepáticas, y aumento del transporte a las células hepáticas.** La disminución del transporte de aminoácidos al interior de las células extrahepáticas reduce su concentración intracelular y en consecuencia, la síntesis proteica (Guyton y Hall, 1996).

Sin embargo, el catabolismo proteico en las células continúa liberando aminoácidos de las proteínas ya existentes, que se difunden a través de las células hacia el plasma. El aumento de la concentración plasmática de aminoácidos, unido al hecho de que el cortisol favorece su transporte al interior de las células hepáticas, podría explicar la mayor utilización de aminoácidos por el hígado. De esta forma, se favorecería la síntesis de proteínas y aumentaría la conversión de aminoácidos en glucosa, conllevando la activación de la gluconeogénesis (Guyton y Hall, 1996).

#### **2.2.2.1.1.3.-METABOLISMO LIPÍDICO**

El cortisol es un potente agente lipolítico que moviliza los ácidos grasos del tejido adiposo, de forma similar a la utilizada para promover la movilización de aminoácidos del tejido muscular. Todo ello provoca una elevación de la concentración de los ácidos grasos libres en el plasma, y por tanto, su utilización para la obtención de energía (Guyton y Hall, 1996).

El mecanismo por el cual el cortisol promueve la movilización de ácidos grasos es desconocido. Se ha sugerido que probablemente sea consecuencia de la disminución del transporte de glucosa al interior de los adipocitos. El alfa-glicerofosfato, como derivado de la glucosa, es necesario tanto para el depósito como para el mantenimiento de triglicéridos en esas células y en su ausencia, los adipocitos comienzan a liberar ácidos grasos (Guyton y Hall, 1996).

Asimismo, el aumento de la movilización de grasas por el cortisol, combinado con la mayor oxidación de ácidos grasos en las células, ayuda a desplazar sus sistemas metabólicos. 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 (Martin

y Crump, 2003). La mayor utilización de ácidos grasos constituye un factor importante para la conservación prolongada del glucógeno y de la glucosa corporales (Guyton y Hall, 1996). De forma sinérgica, el cortisol estimula a determinadas hormonas como glucagón, epinefrina y hormona del crecimiento, para incrementar la movilización de los ácidos grasos (Martin y Crump, 2003).

#### **2.2.2.1.2.-SISTEMA ENDOCRINO**

Como se ha expresado previamente, el cortisol interactúa con otras hormonas como, la insulina, el glucagón y la epinefrina, que participan en el control del metabolismo. Sobre el músculo, los glucocorticoides antagonizan los efectos de la insulina, potenciando al mismo tiempo los efectos del glucagón y la epinefrina. Estos efectos combinados, pueden inducir hiperglucemia, que si persiste, podría favorecer la presencia del síndrome metabólico periférico (Love, 1993; Van der Kolk y cols., 1995).

#### **2.2.2.1.3.-SISTEMA MUSCULOESQUELÉTICO**

Se ha observado que la secreción excesiva de glucocorticoides frena el crecimiento en animales jóvenes, y provoca atrofia del tejido muscular en animales adultos, debido a sus efectos catabólicos sobre las proteínas musculares (Martin y Crump, 2003).

A nivel óseo deprimen la actividad de los osteoblastos e inhiben la síntesis de colágeno. También, desarrollan una acción antagónica sobre la vitamina D, provocando la inhibición de la absorción de calcio a nivel intestinal. Esta disminución de los niveles de calcio, estimula la glándula paratiroides conduciendo a la desmineralización ósea (Martin y Crump, 2003).

#### **2.2.2.1.4.-PIEL Y TEJIDO CONECTIVO**

Los glucocorticoides modulan la proliferación y diferenciación de fibroblastos, necesarios para el mantenimiento de la piel y del tejido conectivo. La estimulación crónica tras tratamientos repetidos con glucocorticoides, provoca adelgazamiento de la piel y tejido subcutáneo. De forma frecuente, la secreción excesiva de glucocorticoides conduce a hiperpigmentación, pioderma y seborrea. En ocasiones, se produce el depósito de sales de calcio en la dermis y en el tejido subcutáneo. La presencia de alopecia por la atrofia de los folículos pilosos, es otro síntoma común de la sobreestimulación producida por los corticoides adrenales (Martin y Crump, 2003).

#### **2.2.2.1.5.-SISTEMA CARDIOVASCULAR**

Los efectos más importantes del cortisol sobre el sistema cardiovascular, se resumen en el mantenimiento del tono vascular y la presión sanguínea. Estos procesos se producen debido al aumento de la respuesta vascular a agentes vasoactivos, como las catecolaminas, angiotensina y vasopresina. El cortisol también potencia la actividad de las enzimas sodio-potasio-ATPasa en los cardiocitos, que será la responsable del efecto inotrópico positivo y cronotrópico positivo con el consiguiente aumento del rendimiento cardiaco (Martin y Crump, 2003).

#### **2.2.2.1.6.-SISTEMA RENAL**

Los glucocorticoides son necesarios para la correcta función renal y para el metabolismo hídrico. Principalmente, el cortisol y la corticosterona tienen alguna actividad mineralocorticoidea debido a su unión a los receptores para los mineralocorticoides. La retención de agua viene determinada por una disminución en el grado de filtración glomerular y por un incremento en la secreción de vasopresina. Elevados niveles de cortisol incrementan la absorción de electrolitos a nivel renal, por acción directa sobre los túbulos renales y de forma indirecta, por la secreción inducida del péptido atrial natriurético (PAN) a nivel cardiaco (Martin y Crump, 2003).

Por otro lado, se ha documentado que tratamientos continuados con elevadas dosis de glucocorticoides causan un incremento del flujo sanguíneo a nivel renal, debido posiblemente a sus efectos vasodilatadores directos sobre los vasos renales. En el plasma, el incremento de los glucocorticoides provoca un mecanismo de retroalimentación negativo sobre la liberación hipotalámica del factor liberador de corticotropinas (CRF) y vasopresina. La disminución de los niveles de vasopresina conduce a un incremento de la excreción de orina, debido al aumento de la filtración de agua a nivel renal. En este sentido, la poliuria es un síntoma clínico asociado a la hipersecreción de glucocorticoides, como acontece en el Síndrome de Cushing (Roarty, 1990; Eustace, 1991; Hillyer y cols., 1992; Love, 1993; Harman y Ward, 2001; Martin y Crump, 2003).

#### **2.2.2.1.7.-HEMATOPOYESIS Y SISTEMA INMUNITARIO**

Los glucocorticoides son los agentes terapéuticos antiinflamatorios e inmunosupresivos más empleados en medicina veterinaria. El cortisol reduce el número periférico de eosinófilos, basófilos, monocitos y linfocitos e incrementa el número de

neutrófilos. Estos efectos hematológicos se han observado incluso tras la administración de una única dosis exógena de corticoides, manteniéndose su efecto durante 12 a 48 horas (Martin y Crump, 2003).

La neutrofilia inducida por el cortisol, se produce como consecuencia del incremento a nivel periférico del número de neutrófilos provenientes de la médula ósea por inhibición de la adhesión a las células endoteliales (Morris y cols., 1988; Martin y Crump, 2003). Al mismo tiempo, el descenso de linfocitos, monocitos y eosinófilos inducido por el cortisol hace que los animales expuestos a glucocorticoides exógenos y endógenos sean más susceptibles a determinadas patologías infecciosas (Martin y Crump, 2003).

Los glucocorticoides son poderosos inhibidores del sistema inmunitario, limitando la secreción de citoquinas por los macrófagos, los linfocitos T Helper y otras células del sistema inmunitario y la síntesis de anticuerpos (Guyton y Hall, 1996). Así, la secreción aumentada de glucocorticoides induce la involución de los nódulos linfoides, timo y bazo, debido a la inhibición de la mitosis de los linfocitos. Los linfocitos procedentes del timo decrecen proporcionalmente más que los derivados de la médula ósea (Martin y Crump, 2003).

El ejercicio de resistencia, la fatiga, la falta de alimentos y agua y las temperaturas extremas provocan una liberación elevada de glucocorticoides. Como resultado, se produce depresión de los mecanismos de defensa, presentando mayor susceptibilidad a determinados procesos patológicos infecciosos por inmunosupresión (Snow y cols., 1982; Desmetch y cols., 1996; Martin y Crump, 2003; Robson y cols., 2003).

El cortisol aumenta la producción de eritrocitos y plaquetas, sin que se conozca la causa. Cuando las glándulas adrenales secretan cortisol en exceso, a menudo se produce policitemia, y a la inversa, aparece anemia (Guyton y Hall, 1996).

#### **2.2.2.2.-EVOLUCIÓN DE LA CORTISOLEMIA DURANTE LA GESTACIÓN**

La mayoría de las investigaciones sugieren que el metabolismo del cortisol se altera de forma considerable durante la gestación. Se deduce, por tanto, que la actividad funcional del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal también pudiera verse modificada en la misma medida. De forma general, se conoce que el cortisol total (Weir y cols., 1971; Nolten y cols., 1980; Cousins y cols., 1983; Abou-Samra y cols., 1984; Tsumagari y cols., 1991) y el cortisol libre (Nolten y cols., 1980; Nolten y Rueckert, 1981) aparecen aumentados en la mayoría de las hembras durante la gestación.

Concretamente en la yegua, se han determinado variaciones de la cortisolemia a lo largo de la gestación en distintas razas, como en PRE (Domingo, 2006; Satué y cols., 2007), 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) y Árabes (Gill y cols., 1985). La mayoría de dichos estudios de investigación concluyen que los niveles de cortisol 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; Domingo, 2006). Otras investigaciones, por el contrario están en desacuerdo (Hoffsis y cols., 1970). A pesar de ello, Gill y cols. (1985) y Cudd y cols. (1995) determinaron que el nivel de cortisol en yeguas vacías era significativamente superior al de yeguas gestantes.

Este incremento de los niveles de cortisol plasmático durante la gestación podría estar producido por el efecto dual de la síntesis de ACTH (Cousins y cols., 1983). Concretamente en la mujer, el incremento en la secreción de esteroides adrenales se produce en el tercer tercio de gestación y está relacionado con la secreción de CRF a nivel placentario. De cualquier forma, esta observación parece controvertida, pues Allolio y cols. (1990) asumieron que los niveles de CRF derivados de la placenta casi no afectaban a la función adrenocortical en este mismo periodo, aunque no excluyeron dichos efectos. De hecho, el CRF no es el único factor que regula el eje hipofisario-adrenal en el último tercio de la gestación. También el sistema nervioso controla los ritmos circadianos de la secreción de cortisol.

Se ha verificado en yeguas preñadas que el efecto de la gestación enmascara la presencia de los ritmos circadianos del cortisol durante la segunda mitad de la preñez. Este proceso parece ser consecuencia de los cambios hormonales al final de la gestación (Fraser y Liggins, 1988; Flisinska-Bojanowska y cols., 1991, a). En humana, por el contrario, se ha demostrado que los ritmos circadianos del cortisol durante la gestación, parecen no alterarse (Cousins y cols., 1983; Allolio y cols., 1990). Estos hechos se ponen de manifiesto debido a la gran multitud de factores que influyen los niveles plasmáticos de cortisol.

Entre los factores que podrían disminuir la concentración de cortisol plasmático se citan, la disminución de la producción (Migeon y cols., 1968) y el incremento en el volumen de distribución (Little, 1965). Estos podrían verse contrarrestados por determinadas modificaciones durante la gestación, que conllevarían una elevación de los niveles de la proteína transportadora de cortisol (CBG) (Rosenthal y cols., 1969) como la disminución del aclaramiento metabólico y/o el incremento de su producción (Nolten y cols., 1980).

### **2.2.2.3.-INFLUENCIA DE LA EDAD SOBRE LA CORTISOLEMIA**

Diversas investigaciones realizadas en el hombre y animales de experimentación han mostrado que la producción y secreción de cortisol se incrementa con la edad (Everitt y Meites, 1989). Este aumento de la actividad esteroidea adrenal se asocia a la escasez de receptores para los corticosteroides a nivel del centro de retroalimentación situado en el hipocampo, en animales geriátricos (Sapolsky y cols., 1986; Rothuizen y cols., 1993). Dicha observación ha conducido a la hipótesis de la “*cascada de glucocorticoides*”, en la cual, la exposición a lo largo de la vida a los glucocorticoides, de forma fisiológica o exógena, conduce a una alteración en la regulación de los receptores en el hipocampo y en consecuencia, a un deterioro de los mecanismos de retroalimentación (Sapolski y cols., 1986; Bergendahl y cols., 2000). De esta forma, los animales de edad avanzada presentarían niveles de ACTH y cortisol elevados de forma continua (Everitt y Meites, 1989; Rothuizen y cols., 1993; Horohov y cols., 1999; Otte y cols., 2005).

Por el contrario, otras investigaciones están en desacuerdo con esta hipótesis. El proceso de involución neuroendocrino que se produce en la senectud, es similar al acontecido en situaciones de estrés prolongado. Tras un estrés repetido o crónico, la reactividad del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal se modifica, presentando un retraso en la síntesis de cortisol (Harbuz y Lightman, 1992; Bhatnagar y cols., 1995).

## **2.3.-BASES ENDOCRINOLÓGICAS DE LA GESTACIÓN EN LA YEGUA**

### **2.3.1.-RECONOCIMIENTO MATERNAL DE LA GESTACIÓN EN LA YEGUA**

Short (1969) definió al término reconocimiento maternal de la gestación (RMG), como las diferentes estrategias empleadas por las especies domésticas para asegurar la continuación de la vida y la función secretoria del cuerpo lúteo, más allá de su vida media útil, y de esta forma, mantener la gestación.

La yegua proporciona un mecanismo distinto y único en comparación con otras especies domésticas. Durante la gestación temprana, concretamente entre los días 6 y 22 de la gestación, la cápsula del glucocálix que envuelve al embrión se hace dura y tensa (Betteridge, 1989), evitando la distensión y elongación del trofoectodermo. De esta forma, el embrión permanece esférico y se mueve continuamente a través del lumen uterino, propulsado por las fuertes contracciones peristálticas del miometrio (Ginther, 1983 a, b; 1985), inducidas por la liberación rítmica de prostaglandinas F2 $\alpha$  y E2 (Allen, 2005).

La PGE2 es muy similar en estructura a la PGF2 $\alpha$ , aunque biológicamente inactiva en referencia a la regresión del cuerpo lúteo (Heap y cols., 1982). Este proceso de síntesis de prostaglandinas y movilidad persiste hasta el día 17, momento en el que se



produce la fijación a nivel de la base del cuerno uterino (Van Niekerk, 1965; Ginther, 1983, a, b).

La naturaleza de la señal por la que el embrión equino bioquímicamente informa a la madre de su presencia, y los mecanismos que condicionan la luteostasis en la yegua siguen siendo un misterio hoy en día. A diferencia de los rumiantes, el embrión equino no sintetiza moléculas proteicas como interferones, con propiedades luteostáticas (Baker y cols., 1991). En la cerda, el embrión secreta cantidades apreciables de estrógenos a partir del día 10 de la gestación (Heap y cols., 1982). Estos estrógenos embrionarios provocan luteostasis, ya que redirigen el flujo de la PGF2 $\alpha$  endometrial fuera del drenaje venoso uterino (Bazer y Thatcher, 1977). Se especula que en la yegua podría ocurrir un fenómeno similar al que acontece en esta última especie. De hecho, la realización de lavados uterinos en la yegua preñada ha puesto de manifiesto una reducción notable de la concentración de PGF2 $\alpha$ , presumiblemente debida a la habilidad del concepto para suprimir su producción a nivel endometrial (Stout y Allen, 2002).

### **2.3.2.-EMBRIOGÉNESIS Y DESARROLLO DE LAS MEMBRANAS FETALES**

Hacia el día 15 de la gestación, la progesterona materna y los estrógenos embrionarios son las hormonas dominantes dentro del útero, e importantes para la producción y composición histotrófica uterina y proteínas específicas de la gestación, comúnmente denominada “leche uterina” (Davies Morel, 2003). La cápsula del blastocisto también regula el suministro de dichos nutrientes al embrión. Debido a la carga electrostática y a la configuración del glucocálix (Oriol y cols., 1993, a), la superficie externa es el lugar de adherencia de proteínas y otros componentes de las secreciones de las glándulas endometriales, resultando en la expansión del blastocisto.

Hacia el día 17 de la gestación se produce el cese de la migración endometrial del blastocisto (Oriol y cols., 1993, b). La cápsula comienza a desintegrarse alrededor del día 21, debido a la acción de enzimas proteolíticas secretadas por el trofoblasto y/o el epitelio luminal del endometrio (Denker y cols., 1987). Este hecho permite a las células trofoblásticas en la superficie externa de la membrana coriovitelina, protruir en el interior de las glándulas endometriales para proveer la adherencia física del concepto al endometrio.

### **2.3.3.-FORMACIÓN DE LOS CÁLICES ENDOMETRIALES**

Entre los días 30 y 40 de la gestación, las células trofoblásticas especializadas del corion invaden el endometrio materno para formar los cálices endometriales (Ginther, 1992). Estas células sintetizan gonadotropina coriónica equina (eCG), que será vertida al torrente circulatorio sanguíneo de la madre, alcanzando la concentración máxima (10-100 IU/ml) a los 50 - 70 días de la ovulación (Allen, 1969).

Se trata de una hormona de naturaleza glucoproteica (Gospodorowicz, 1972), que expresa actividad biológica FSH y LH, en una relación de 1,4:1 (Stewart y cols., 1976). La eCG favorece la luteinización sin ovulación de determinados folículos ováricos dominantes desarrollados durante la primera mitad de la gestación, debido al flujo continuo de FSH en sangre materna (Evans e Irvine, 1975). Estos cuerpos lúteos secundarios neoformados, comienzan a sintetizar progesterona debido a la acción de la eCG. De esta forma, la eCG participa en el mantenimiento del cuerpo lúteo primario y en la génesis y mantenimiento de los cuerpos lúteos secundarios o accesorios (Allen y Stewart, 1992; Koets, 1995).

Los cálices endometriales comienzan a regresar alrededor de los 70 a 100 días de gestación, y con ellos, los niveles de eCG y las estructuras lúteas (Allen y Moor, 1972; Plaschka y cols., 1993; Allen y cols., 2004). La regresión total se produce entre los 120-180 días de la gestación, y es a partir de este momento, cuando la placenta asume el control del mantenimiento de la gestación, sin ayuda del ovario materno (Holtan y cols., 1979).

### **2.3.4.-DINÁMICA ENDOCRINOLÓGICA DURANTE LA GESTACIÓN: PROGESTERONA Y ESTRÓGENOS**

#### **2.3.4.1.-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).

Como se ha expresado previamente, la prevención de la regresión del cuerpo lúteo primario, en asociación con la movilidad del concepto a nivel uterino, se ha caracterizado 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 cuerpo lúteo primario, sigue sintetizando progesterona. Tanto el tamaño del cuerpo lúteo, como la producción de progesterona son mínimos durante los primeros 15 días de gestación.

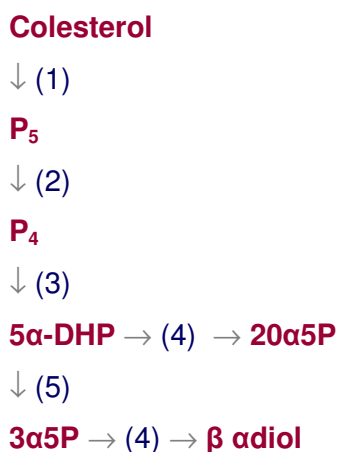
A partir de este momento, el tamaño del cuerpo lúteo se incrementa y con él la concentración de progesterona, conllevando al resurgimiento del cuerpo lúteo primario, que corresponde a la “*segunda respuesta luteal de la gestación*”. Alrededor de los 30 ó 40 días, los cálices endometriales comienzan a sintetizar eCG (Ginther, 1992). El incremento de los niveles sistémicos de eCG y progesterona, se produce de forma paralela al aumento del tamaño del cuerpo lúteo primario (Bergfelt, 2000).

La elevada actividad folicular acontecida durante los 40 y 60 días de la gestación, se asocia con la formación de los cuerpos lúteos secundarios (Chavatte y cols., 1997). La formación de estas glándulas lúteas corresponde a la “*tercera respuesta luteal de la gestación*” (Ginther, 1992). Estos cuerpos lúteos suplementarios al igual que el cuerpo lúteo primario, se encargan de producir progesterona durante este periodo. Inicialmente, la formación de estas estructuras resulta de la luteinización de los folículos ovulatorios (cuerpos lúteos secundarios) y más tardíamente, de los folículos anovulatorios (cuerpos lúteos accesorios) debido al efecto luteotropeo de la eCG (Evan e Irvine, 1975; Ginther, 1992; Davies Morel, 2003). Este tipo de dinámica endocrinológica, conlleva de nuevo, al incremento de la secreción de progesterona alrededor del día 75 de la gestación.

La regresión de los cálices endometriales provoca la involución de todos los cuerpos lúteos alrededor de los 120-180 días de gestación, induciendo la disminución drástica de la concentración plasmática de progesterona (Pashen y Allen, 1979; Naber y cols., 1999; Ousey, 2004). Determinados estudios experimentales en yeguas mostraron 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 progesterona ovárica no es necesaria, puesto que los cuerpos lúteos ya regresaron y no se evidencian signos de aborto (Holtan y cols., 1979; Davies Morel, 2003). Por tanto, estos experimentos sugirieron 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 progesterona desde la sangre fetal a la circulación materna (Nett y cols., 1976; Caldas y cols., 1990).

Mediante ovariectomía en yeguas, 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 progesterona, se unen a sus receptores (Holtan y cols., 1991) y son cuantitativamente mayoritarios en el plasma (Ousey, 2004). Las vías metabólicas para la síntesis de progesterona y progestágenos y sus conversiones enzimáticas se ilustran en la Figura 1 (Hamon y cols., 1991; Holtan y cols., 1991; Ousey, 2004):



Abreviaturas	Nombre común	Nombre sistemático
P <sub>5</sub>	Pregnenolona	3β-hidroxi-5 pregnan-20-ona
P <sub>4</sub>	Progesterona	4-pregnan-3,20-diona
5αDHP	5α-dihidroprogesterona	5α-pregnan-3, 20 diona
20α5P	-	20α-hidroxi-5-pregnan-3-ona
Badiol	-	5α-pregnan-3β, 20αdiol
3α5P	-	3α-hidroxi-5-pregnan-3-ona

**Enzimas:**

- 1.-P450<sub>SCC</sub>, citocromo de clivaje de la cadena lateral del colesterol (feto y placenta)
- 2.-3β-HDS, 3β deshidrogenasa hidroxisteroide (feto y placenta)
- 3.-5α-reductasa (endometrio y placenta)
- 4.-20α-reductasa (endometrio)
- 5.- 3β-oxidoreductasa (placenta)

**Figura 1.** Vías metabólicas para la síntesis de progesterona y progestágenos y sus conversiones enzimáticas (Hamon y cols., 1991; Holtan y cols., 1991; Ousey, 2004).

La glándula adrenal fetal sintetiza elevadas cantidades de pregnenolona (>10 μmol/min), que será el precursor de todos los progestágenos durante la gestación tardía

(Pashen y Allen, 1979; Thorburn, 1993; Chavatte y cols., 1997). La enzima de clivaje de la cadena lateral P450<sub>SCC</sub> necesaria para la conversión del colesterol está presente en la placenta equina hacia mediados de la gestación y aparece ampliamente distribuida en los tejidos uteroplacentarios hacia el término de la gestación (Han y cols., 1995; Ousey, 2004).

Los progestágenos más importantes en el plasma materno durante este periodo son el 5 $\alpha$ -DHP y sus derivados, 20- $\alpha$ 5P y el  $\beta$  $\alpha$ -diol (Chavatte y cols., 1997). Estos esteroides son producidos a partir de la pregnenolona y concretamente, el 20 $\alpha$ -5P y el  $\beta$  $\alpha$ -diol alcanzan valores superiores a 500 ng/ml a término (Holtan y cols., 1991; Ousey y cols., 2003). La pregnenolona a nivel de los tejidos uteroplacentarios también se transforma en progesterona, y se libera exclusivamente a la circulación umbilical, mientras que el 20 $\alpha$ 5P y el 5 $\alpha$ -DHP son secretados tanto a la circulación umbilical como uterina (Ousey y cols., 2003). 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).

#### **2.3.4.2.-ESTRÓGENOS**

La producción fetoplacentaria de estrógenos en la yegua preñada difiere significativamente de la de progesterona. 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 gestación. 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), dihidroepiandrosterona (DHEA) y precursores de la DHEA (3 $\beta$ -hidroxil C-19), todos ellos sintetizados a partir de las células intersticiales de la gónada fetal (Bhavnani y Short, 1973; Tait y cols., 1983). De hecho, la gónada fetal contiene las enzimas necesarias P450<sub>SCC</sub> y 17 $\alpha$ -hidroxilasa para la conversión de colesterol a DHEA. La DHEA es aromatizada en la placenta a estrógenos fenólicos, estrona y estradiol 17 $\alpha$  y  $\beta$  (Pashen y cols., 1982). Los estrógenos  $\beta$  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 ( $17\beta$  hidroxiequinelina) y sulfoconjugados (Ousey, 2004).

La concentración de estrógenos varía a lo largo de la gestación en la yegua. Durante los primeros 35 días, los niveles son similares a los de diestro en yeguas no grávidas, incrementándose alrededor del día 40 (Nett y cols., 1975; Zavy y cols., 1984; Plascha y cols., 1993; Tsumagari y cols., 1991; Ferraz y cols., 2001), debido al desarrollo folicular previo a la formación de los cuerpos lúteos (Daels y cols., 1991; Kanitz y cols., 2007) y se mantienen hasta los 60 ó 70 días (Le Blanc, 1991; Stabenfeldt y cols., 1991). Cabe destacar que el cuerpo lúteo primario de gestación en la yegua produce sulfato de estrona en este momento, en respuesta a la eCG (Illera y cols., 2001).

A partir del día 80, la concentración se incrementa nuevamente, alcanzando niveles máximos alrededor de los 210 días (Kindahl y cols., 1982; Tsumagari y cols., 1991; Henderson y cols., 1998; 2000; 2004; Lima y cols., 2001). Este segundo pico de la concentración de estrógenos no se afecta por la ovariectomía, aunque sí por la muerte fetal espontánea, 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 (Pashen y Allen, 1979; Kindahl y cols., 1982; Stabenfeldt y cols., 1991; Le Blanc, 1991; 1997; Cebulj-Kadunc y cols., 2003; Ousey, 2004).

Un hecho importante a destacar es que las concentraciones de esteroides no conjugados (estrona, estradiol  $17\alpha$  y  $17\beta$ ) en heces exhiben patrones similares a las plasmáticas (Çelebi y Demirel, 2003) y son fuentes de diagnóstico de gestación a partir de los 120 días en la yegua (Bamberg y cols., 1984). Así, se han determinado concentraciones de sulfato de estrona en heces, obteniendo medias superiores a 1000 pg/ml hacia el día 310 de la gestación (Douglas, 2004). Estos niveles disminuyen posteriormente, alcanzando valores medios de 500 pg/ml hacia el final de la gestación.

El papel biológico de los estrógenos secretados por la unidad feto-placentaria es un hecho desconocido aún. No obstante, se sabe que juegan un papel importante sobre la regulación del flujo uterino y placentario para facilitar el intercambio de nutrientes y productos de deshecho entre la madre y el feto, como se ha mostrado en la oveja (Resnik y cols., 1974; Pupkin y cols., 1975).

Los estrógenos son importantes en los procesos de labor activa. En el momento del parto promueven la síntesis de prostaglandinas e incrementan la sensibilidad endometrial a la oxitocina, estimulando por tanto, la actividad contráctil del miometrio (Egarter y Husslein, 1992; 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 la gestación. El parto en dichas yeguas se produce de forma espontánea, precedido de fuertes contracciones miométricas, con disminución significativa de la síntesis de PGF $\alpha$  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. Por otro lado, se ha documentado que la concentración de sulfato de estrona 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).

### **3.-MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1.-CENTRO DE REALIZACIÓN**

El estudio experimental de la presente investigación se ha llevado a cabo en las yeguas “La Mariposa” (Rafael Cervera), “Martínez Suay”, “Francisco Ballester” y “Francisco Tarazón”. Dichas ganaderías se sitúan en el término municipal de Náquera, Bétera y Ribarroja del Turia de la Comunidad Valenciana.

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

#### **3.2.-MATERIAL ANIMAL**

##### **3.2.1.-DESCRIPCIÓN GENERAL DE LOS ANIMALES**

Se ha estudiado un total de 31 yeguas reproductoras de Pura Raza Española (PRE) elegidas libremente al azar de la totalidad del efectivo reproductor de las citadas ganaderías. En todos los casos los propietarios aceptaron la participación voluntaria en la investigación. La edad de dichos animales al inicio del estudio estuvo comprendida entre los 4 y 17 años. En las Tablas 1.a, 1.b, 1.c y 1.d se presentan las características de cada una de las yeguas objeto de estudio distribuidas por ganaderías.



<b>Yegua</b>	<b>Año de nacimiento</b>	<b>Capa</b>	<b>Yeguada</b>	<b>Fecha última cubrición</b>
MAGICA	2001	TORDA	MARTÍNEZ SUAY	11-04-2005
ARCOIRIS	2000	TORDA	MARTÍNEZ SUAY	11-01-2005
CARIÑOSA	2001	TORDA	MARTÍNEZ SUAY	8-04-2005
ESMERALDA	2001	TORDA	MARTÍNEZ SUAY	1-03-2005
NIEVE	2001	TORDA	MARTÍNEZ SUAY	28-03-2005
GUINDA	1991	TORDA	MARTÍNEZ SUAY	11-03-2005
AGUARDIENTE	2000	TORDA	MARTÍNEZ SUAY	22-03-2005
TERCIOPELO	1999	TORDA	MARTÍNEZ SUAY	15-05-2005
FARAONA	1996	TORDA	MARTÍNEZ SUAY	15-05-2005
LUNA	2001	TORDA	MARTÍNEZ SUAY	24-05-2005
CHAVALA	1998	CASTAÑA	MARTÍNEZ SUAY	27-03-2005
PERLA	2001	TORDA	MARTÍNEZ SUAY	18-04-2005
ALTANERA	2000	CASTAÑA	MARTÍNEZ SUAY	12-06-2005
AUREOLA	1997	TORDA	MARTÍNEZ SUAY	17-06-2005

**TABLA 1.a:** Características generales del colectivo animal estudiado

<b>Yegua</b>	<b>Año de nacimiento</b>	<b>Capa</b>	<b>Yeguada</b>	<b>Fecha última cubrición</b>
ISA	1999	NEGRA	TARAZÓN	6-03-2005
INSULA	1999	NEGRA	TARAZÓN	6-03-2005
HONRADA	1998	CASTAÑA	TARAZÓN	5-12-2004
BIENVENIDA	1992	NEGRA	TARAZÓN	25-02-2005

**TABLA 1.b:** Características generales del colectivo animal estudiado

<b>Yegua</b>	<b>Año de nacimiento</b>	<b>Capa</b>	<b>Yeguada</b>	<b>Fecha última cubrición</b>
CORONADA	2000	CASTAÑA	BALLESTER	17-04-2005
ULLERA	1999	TORDA	BALLESTER	29-01-2005
LISTA	1995	CASTAÑA	BALLESTER	20-02-2005
TESEIDA	1998	CASTAÑA	BALLESTER	15-02-2005
FAVORITA	1996	CASTAÑA	BALLESTER	15-02-2005
SERRANIA	1997	CASTAÑA	BALLESTER	20-02-2005
VENGANZA	2000	TORDA	BALLESTER	14-04-2005
INFANTA	1997	CASTAÑA	BALLESTER	31-01-2005
MASMONA	2001	CASTAÑA	BALLESTER	25-04-2005
ZINGARA	1992	TORDA	BALLESTER	25-04-2005
CARCELERA	1999	CASTAÑA	BALLESTER	21-05-2005

**TABLA 1.c:** Características generales del colectivo animal estudiado

<b>Yegua</b>	<b>Año de nacimiento</b>	<b>Capa</b>	<b>Yeguada</b>	<b>Fecha última cubrición</b>
LUCÍA	1998	CASTAÑA	LA MARIPOSA	5-05-2005
SALVIA	1988	TORDA	LA MARIPOSA	9-03-2005

**TABLA 1.d:** Características generales del colectivo animal estudiado

Todas ellas poseían un estado sanitario correcto y ninguna mostró patologías reproductivas a lo largo del periodo de estudio. Su historial clínico tampoco reveló alteraciones destacables.

Para analizar la influencia de la gestación sobre los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales la duración total de la gestación ha sido dividida en tres periodos de la misma duración: I (desde el inicio de la gestación hasta el día 115), II (desde el día 116 hasta el día 230) y III (desde el día 231 hasta el momento del parto). Además, para estudiar el efecto de la edad de la yegua sobre los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales se han establecido tres grupos de edad, según se expresa en la siguiente tabla:

	<b>N</b>	<b>Intervalo edad (años)</b>	<b>Edad media±DS</b>
<b>Grupo A</b>	21	4-9	6,65±1,17
<b>Grupo B</b>	7	10-14	10,00±1,23
<b>Grupo C</b>	3	15-20	16,20±1,64

**TABLA 2:** Distribución en grupos de edad de las 31 yeguas PRE incluidas en la presente investigación.

### **3.2.2.-CONDICIONES DE CRÍA Y ALIMENTACIÓN**

Todos los animales incluidos en este estudio fueron sometidos a las mismas condiciones de manejo, alimentación y control reproductivo. Ninguna de ellas 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 se destinaron a la reproducción, siendo esta la única actividad desarrollada hasta el inicio de la presente investigación. Desde el momento en que se confirmó la gestación y hasta el inicio del parto las yeguas permanecieron sueltas en la pradera.

Las condiciones climatológicas de temperatura, humedad y número de horas diarias de luz solar correspondientes a la zona de ubicación de las yeguas, se distribuyeron por meses y aparecen reflejadas en las Tablas 3.a y 3.b.

Mes	Tª	Humedad	Periodo solar
ABRIL 2005	16,5	59	67
MAYO 2005	20,0	62	68
JUNIO 2005	24,1	51	67
JULIO 2005	25,5	56	62
AGOSTO 2005	24,7	55	61
SEPTIEMBRE 2005	22,0	57	64
OCTUBRE 2005	19,1	65	50
NOVIEMBRE 2005	12,3	63	47
DICIEMBRE 2005	9,4	60	49

**TABLA 3.a.**-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)

Mes	Tª	Humedad	Periodo solar
ENERO 2006	8,4	69	43
FEBRERO 2006	9,5	64	51
MARZO 2006	14,9	53	62
ABRIL 2006	16,6	59	54
MAYO 2006	20,1	52	52

**TABLA 3.b.**-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)

La alimentación administrada a las yeguas se estableció en función de las necesidades nutritivas, según la edad y 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 en la dieta dividida en dos raciones, fueron de 4 a 6 kilos. La fibra la proporcionaron de 2 a 3 kg de heno de alfalfa y paja. El consumo de agua fue *ad libitum*. Durante los dos últimos meses y debido al estado avanzado de gestación, se le adicionó a la ración un suplemento vitamínico. Los animales no tuvieron acceso libre al bloque de minerales durante el periodo de estudio.

### **3.2.3.-MANEJO REPRODUCTIVO DE LAS YEGUAS**

Desde el comienzo del periodo reproductivo y hasta conseguir que todas las hembras quedasen gestantes, las yeguas que mostraban signos de celo se expusieron en días alternos al semental, para comprobar el grado de aceptación del macho o recelado.

A continuación, aquellas yeguas que se mostraron receptivas al semental, se sometieron a una exploración rectal y colposcópica, evaluando aspectos como el tono del cuello uterino, el grado de crecimiento folicular, las características del moco cervical, etc. Asimismo, se realizó un estudio ultrasonográfico del ovario utilizando una sonda transrectal (Ecógrafo: Aloka 500; Sonda transrectal: 5 MHz), para determinar el momento óptimo de la cubrición. Las yeguas que presentaron diámetros foliculares superiores a 40 mm se mandaron a cubrir mediante monta natural en la mayoría de las ganaderías a excepción de la yeguada "Ballester" en la que se empleó la inseminación artificial con semen fresco de los propios sementales de esta ganadería. La confirmación de la ovulación se realizó a las 48 horas.

El diagnóstico de gestación se realizó a los 15 días post-cubrición mediante ecografía transrectal. Posteriormente, se confirmó el mantenimiento de la gestación 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 post-parto.

### **3.3.-OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS**

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

Para la realización de este trabajo se extrajeron muestras de sangre venosa a las 31 yeguas reproductoras durante los 11 meses de gestación, con intervalos entre toma de muestras de 30 días.

La colección de sangre se efectuó mediante punción en la vena yugular externa, previa desinfección del área interesada con alcohol, utilizando jeringas desechables con cono luer (*Discardit® II Becton Dickinson*) 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 cortisol plasmático matinales, 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 ayunas.

De cada una de las extracciones se obtuvo un total de 20 ml de sangre venosa, que quedó separada en dos fracciones para su posterior análisis. La fracción 1, con un volumen total de 10 ml, fue introducida en tubos con heparina-litio como anticoagulante (*Tapval®*). De esta primera fracción se separó un volumen de 0,1 ml, en tubos de microhematócrito, procediendo a su centrifugación utilizando una centrífuga de microhematócrito (*Quims, Q222H®*). La fracción 2, con un volumen también de 10 ml, fue introducida en tubos de vidrio con activadores de la coagulación y gránulos PS para desuerado (*Tapval®*).

Las muestras fueron protegidas de la luz y refrigeradas a 4°C durante su recogida y posterior transporte al laboratorio. Las muestras fueron centrifugadas (*Centrífuga P Selecta®*) a 3500 rpm durante 10 minutos, para la obtención de plasma y suero, necesarios para las determinaciones bioquímicas y hormonales, respectivamente. Tras la centrifugación, se transvasó el sobrenadante a tubos Eppendorf mediante pipetas Pasteur. Las muestras permanecieron almacenadas a -20°C. Las muestras de suero se enviaron al laboratorio de Fisiología de la Universidad Complutense de Madrid. Éste se realizó utilizando nieve carbónica para mantener las muestras en congelación.

### **3.3.2.-ANÁLISIS LABORATORIAL**

#### **3.3.2.1.-ANÁLISIS HEMATOLÓGICO Y BIOQUÍMICO**

En esta investigación, se han determinado los siguientes parámetros laboratoriales: hematócrito (%), concentración de proteínas plasmáticas totales (PPT, g/dl) y concentraciones plasmáticas de sodio (Na, mmol/l), potasio (K, mmol/l) y cloro (Cl, mmol/l).

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

La concentración de PPT se determinó mediante espectrofotometría, según el método de Biuret, basado en la reacción de las proteínas del plasma con iones Cu en un medio alcalino. A partir de esta reacción, se genera un compuesto coloreado, detectable mediante el espectrofotómetro (*Clima M5-15 RAL*) (Gornall *et al.*, 1949).

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

### **3.3.2.2.-ANÁLISIS HORMONAL**

En este estudio, se han determinado las concentraciones de renina (REN), angiotensina (ANG-II), aldosterona (ALDO), cortisol (CORT), sulfato de estrona (ESTRONA) y progesterona (PROGEST) para cada una de las extracciones a lo largo de los 11 meses de gestación. A continuación se especifican los procedimientos de determinación y las características de los análisis.

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

La concentración de angiotensina II (ANG-II) se determinó mediante un método ELISA de competición basado en el sistema biotina-estreptavidina-peroxidasa. Se utilizaron placas de ELISA recubiertas con el anticuerpo secundario (*Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Belmont, CA, USA*), el anticuerpo primario (Anticuerpo policlonal anti-ANG-II, RAB 002-12, *Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Belmont, CA, USA*), la ANG-II biotinilada (*Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Belmont, CA, USA*) y el conjugado estreptavidina-peroxidasa (EK-SA-HRP, *Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Belmont, CA, USA*). Este procedimiento laboratorial mostró una elevada especificidad para la ANG-II

(porcentaje de recuperación del 98,5%). La sensibilidad de esta técnica fue de 100 pg/ml. Los CV intra-análisis e inter-análisis fueron menores de 5% y 14%, respectivamente.

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

Los niveles de cortisol (CORT) se han cuantificado en suero, a partir de un volumen de 100  $\mu$ l, mediante un método inmunoenzimático de competición, en el que se han empleado anticuerpos policlonales C97 (*Laboratorio de Endocrinología del Departamento de Fisiología de la Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España*). Este procedimiento laboratorial muestra una elevada especificidad para el cortisol. No obstante, presenta reactividad cruzada con la prednisolona (15,71%), prednisona (18,9%), cortisona (10,8%), corticosterona (6,4%), 11-deoxycortisol (40,31%), 21-deoxycortisol (5,31%) y dexametasona (< 0,1%). Ninguna de las yeguas 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  $\mu$ 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%.

Los niveles de sulfato de estrona (ESTRONA) (ng/ml) y progesterona (PROGEST) (ng/ml) se determinaron mediante la técnica inmunoenzimática de competición (EIA). Para la determinación de la concentración de ESTRONA se utilizó un método directo sin extracción previa de la muestra. En la determinación de la progesterona 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.



### 3.4.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el estudio estadístico, se utilizó el programa informático *SPSS Inc* versión 12.01 para *Windows*.

Los resultados se clasificaron en función del mes y periodo de gestación, así como del grupo de edad de las yeguas. Se calcularon los estadísticos descriptivos, como la media, los valores máximo y mínimo y la desviación estándar (DS).

Para analizar el efecto de los diferentes periodos de la gestación (meses y periodos de gestación) así como de la edad de la yegua sobre los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) previa transformación logarítmica de los datos, para cumplir las condiciones de normalidad y homocedasticidad mediante el Test de Kolmogorov-Smirnoff. En aquellos casos en los que este análisis mostró la existencia de diferencias estadísticamente significativas, se aplicó seguidamente un test de *Tukey HSD*. Con este último se determinaron las diferencias entre los distintos periodos de gestación y los grupos de edad. Para las variables no distribuidas normalmente, se empleó un test comparativo de Krustal-Wallis. Cuando las diferencias eran estadísticamente significativas, las comparaciones entre grupos se realizaron mediante el test de Mann-Whitney con ajuste de Bonferroni.

Finalmente, se llevó a cabo un análisis de correlación lineal (*Correlación de Pearson*) para valorar la relación existente entre las diversas variables hemáticas, bioquímicas y hormonales. Se consideró un nivel de significación de  $p < 0,05$ .

#### **4.-RESULTADOS**

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

**4.1.-**Establecimiento de valores hematológicos, bioquímicos y hormonales de referencia en la yegua PRE durante la gestación. Para este primer apartado se han considerado de forma conjunta las 274 muestras sanguíneas obtenidas, independientemente del ciclo reproductor y del patrón temporal de las venipunciones.

**4.2.-**Evolución de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales durante la gestación en la yegua PRE. En el análisis de la influencia de la gestación se han considerado el mes y el periodo de gestación, dividiendo para ello la duración total de la gestación en tres periodos de la misma duración.

**4.3.-**Influencia de la edad de la yegua PRE sobre las variables hematológicas, bioquímicas y hormonales, estableciendo tres grupos de edad.

**4.4.-**Correlaciones entre las diversas variables hematológicas, bioquímicas y hormonales en la yegua PRE.

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

En la tabla 4 se recopilan los estadísticos básicos de las diversas variables hematológicas, bioquímicas y hormonales consideradas en este trabajo para el conjunto de la población equina analizada.

	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	274	30,00	50,00	35,82	3,780
<b>PPT (gr/dl)</b>	274	6,000	8,500	6,880	0,770
<b>NA (mmol/l)</b>	274	130,0	164,1	147,8	10,58
<b>K (mmol/l)</b>	274	2,900	5,400	3,600	0,820
<b>CL (mmol/l)</b>	274	88,00	122,0	107,4	6,760
<b>REN (pg/ml)</b>	274	1,440	9,260	4,180	2,340
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	274	0,050	7,660	1,280	1,560
<b>ALDO (pg/ml)</b>	274	101,5	1937	562,2	387,6
<b>CORT (ng/ml)</b>	274	4,210	281,3	55,63	44,77
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	274	0,010	745,1	58,42	78,97
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	274	0,030	164,6	12,88	18,89

**TABLA 4.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE (*HTO*: valor hematócrito; *PPT*: concentración de proteínas plasmáticas totales; *NA*: sodio; *K*: potasio; *CL*: cloro, *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALDO*: aldosterona, *CORT*: cortisol; *ESTRONA*: sulfato de estrona; *PROGEST*: progesterona).

#### 4.2.-EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES EN LA YEGUA PRE DURANTE LA GESTACIÓN

A continuación, en las tablas 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 y 15 se muestran los estadísticos básicos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales correspondientes a cada mes de gestación.

	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	11	30,00	37,00	32,96	2,510
<b>PPT (gr/dl)</b>	11	6,140	7,400	6,610	0,860
<b>NA (mmol/l)</b>	11	131,0	164,0	146,6	12,13
<b>K (mmol/l)</b>	11	3,000	4,800	3,720	0,800
<b>CL (mmol/l)</b>	11	94,00	122,0	106,9	8,372
<b>REN (pg/ml)</b>	11	1,980	3,520	2,640	0,480
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	11	0,100	3,180	0,670	0,950
<b>ALDO (pg/ml)</b>	11	178,0	1403	628,8	449,1
<b>CORT (ng/ml)</b>	11	10,97	163,9	58,82	49,77
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	11	0,050	41,29	4,710	12,29
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	11	2,500	36,71	9,150	9,850

**Tabla 5.-**Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el primer mes de gestación (*HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona*).

	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	22	30,00	37,00	32,60	2,590
<b>PPT (gr/dl)</b>	22	6,120	7,700	6,860	0,720
<b>NA (mmol/l)</b>	22	137,0	163,1	148,6	9,120
<b>K (mmol/l)</b>	22	3,000	4,700	3,700	0,600
<b>CL (mmol/l)</b>	22	101,0	119,0	107,6	5,590
<b>REN (pg/ml)</b>	22	1,890	5,810	3,130	1,020
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	22	0,100	3,390	0,970	1,170
<b>ALDO (pg/ml)</b>	22	120,4	722,6	346,1	211,9
<b>CORT (ng/ml)</b>	22	10,61	121,4	51,55	27,15
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	22	0,090	41,64	5,380	10,24
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	22	1,670	91,02	25,27	23,98

**Tabla 6.-**Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el segundo mes de gestación (*HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona*).

	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	25	30,40	39,10	34,20	2,790
<b>PPT (gr/dl)</b>	25	6,130	7,650	6,970	0,760
<b>NA (mmol/l)</b>	25	136,0	163,9	148,8	10,97
<b>K (mmol/l)</b>	25	3,000	4,600	3,630	0,730
<b>CL (mmol/l)</b>	25	97,00	121,0	107,7	6,340
<b>REN (pg/ml)</b>	25	1,960	9,260	3,310	1,590
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	25	0,100	6,820	1,130	1,520
<b>ALDO (pg/ml)</b>	25	140,3	1351,6	495,8	359,2
<b>CORT (ng/ml)</b>	25	13,04	224,6	64,45	45,26
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	25	0,760	113,9	23,02	25,45
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	25	2,800	91,02	26,28	23,16

**Tabla 7.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el tercer mes de gestación (*HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona*).

	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	30	30,00	42,00	35,08	3,140
<b>PPT (gr/dl)</b>	30	6,130	7,860	6,940	0,760
<b>NA (mmol/l)</b>	30	130,0	163,0	143,2	10,59
<b>K (mmol/l)</b>	30	2,900	5,000	3,390	0,670
<b>CL (mmol/l)</b>	30	88,00	120,0	104,0	6,780
<b>REN (pg/ml)</b>	30	1,820	6,180	2,560	0,840
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	30	0,120	7,660	1,030	1,660
<b>ALDO (pg/ml)</b>	30	101,5	1794	570,3	420,6
<b>CORT (ng/ml)</b>	30	10,30	161,7	74,43	44,09
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	30	0,010	250,1	64,90	64,11
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	30	2,690	65,19	20,25	17,29

**Tabla 8.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el cuarto mes de gestación (*HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona*).

	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	31	30,50	39,10	34,95	2,580
<b>PPT (gr/dl)</b>	31	6,220	7,880	6,970	0,760
<b>NA (mmol/l)</b>	31	133,0	164,1	148,3	11,04
<b>K (mmol/l)</b>	31	3,100	4,600	3,540	0,800
<b>CL (mmol/l)</b>	31	97,00	121,0	107,0	6,970
<b>REN (pg/ml)</b>	31	1,910	8,930	2,840	1,460
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	31	0,110	6,690	1,600	1,760
<b>ALDO (pg/ml)</b>	31	269,8	1633	795,2	396,6
<b>CORT (ng/ml)</b>	31	13,61	281,3	77,21	66,97
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	31	0,250	414,5	100,7	95,67
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	31	0,400	26,97	8,510	7,850

**Tabla 9.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el quinto mes de gestación (*HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona*).

	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	30	31,80	43,00	37,27	3,290
<b>PPT (gr/dl)</b>	30	6,200	7,760	6,950	0,810
<b>NA (mmol/l)</b>	30	125,0	163,0	147,1	11,15
<b>K (mmol/l)</b>	30	2,900	4,600	3,520	0,990
<b>CL (mmol/l)</b>	30	91,00	121,0	106,5	7,070
<b>REN (pg/ml)</b>	30	1,670	8,200	3,260	1,850
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	30	0,130	7,580	1,430	1,540
<b>ALDO (pg/ml)</b>	30	164,1	1794	619,7	362,5
<b>CORT (ng/ml)</b>	30	17,17	142,5	55,00	37,36
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	30	22,03	745,1	131,70	142,8
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	30	1,050	36,65	5,990	6,780

**Tabla 10.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el sexto mes de gestación (*HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona*).

	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	31	31,80	46,00	36,71	4,870
<b>PPT (gr/dl)</b>	31	6,000	7,700	6,770	0,840
<b>NA (mmol/l)</b>	31	126,0	164,0	148,2	12,30
<b>K (mmol/l)</b>	31	3,100	4,600	3,620	0,910
<b>CL (mmol/l)</b>	31	95,00	121,0	107,9	8,060
<b>REN (pg/ml)</b>	31	1,560	9,140	4,450	2,610
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	31	0,090	4,590	1,190	1,120
<b>ALDO (pg/ml)</b>	31	193,5	1819	658,2	392,7
<b>CORT (ng/ml)</b>	31	14,34	246,2	64,29	45,95
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	31	1,030	273,9	91,12	72,55
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	31	1,090	164,6	14,10	33,20

**Tabla 11.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el séptimo mes de gestación (*HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona*).

	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	31	32,00	45,60	37,70	4,480
<b>PPT (gr/dl)</b>	31	6,140	7,850	6,860	0,780
<b>NA (mmol/l)</b>	31	132,0	163,0	149,7	9,010
<b>K (mmol/l)</b>	31	3,100	4,600	3,700	0,960
<b>CL (mmol/l)</b>	31	98,00	122,0	108,8	5,750
<b>REN (pg/ml)</b>	31	1,620	8,600	5,040	2,390
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	31	0,100	5,830	1,140	1,560
<b>ALDO (pg/ml)</b>	31	106,6	1769	504,7	389,1
<b>CORT (ng/ml)</b>	31	4,210	273,7	50,08	50,31
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	31	0,010	165,7	54,19	48,90
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	31	0,550	34,65	6,170	9,220

**Tabla 12.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el octavo mes de gestación (*HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona*).

	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	30	33,00	50,00	37,97	3,710
<b>PPT (gr/dl)</b>	30	6,130	7,700	6,910	0,820
<b>NA (mmol/l)</b>	30	131,0	164,1	148,0	9,180
<b>K (mmol/l)</b>	30	2,900	4,800	3,670	1,020
<b>CL (mmol/l)</b>	30	95,00	120,0	108,2	6,270
<b>REN (pg/ml)</b>	30	1,440	8,400	5,650	2,350
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	30	0,050	6,500	1,610	1,910
<b>ALDO (pg/ml)</b>	30	112,2	1367	458,6	339,2
<b>CORT (ng/ml)</b>	30	7,480	93,02	32,72	22,24
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	30	0,500	126,0	33,13	25,17
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	30	0,030	34,50	7,300	9,780

**Tabla 13.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el noveno mes de gestación (*HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona*).

	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	22	32,00	43,00	35,71	4,070
<b>PPT (gr/dl)</b>	22	6,170	7,710	6,830	0,700
<b>NA (mmol/l)</b>	22	130,0	163,9	148,5	10,56
<b>K (mmol/l)</b>	22	3,100	4,600	3,620	0,610
<b>CL (mmol/l)</b>	22	99,00	122,0	108,7	6,440
<b>REN (pg/ml)</b>	22	3,220	8,800	7,200	1,440
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	22	0,060	6,380	1,660	1,730
<b>ALDO (pg/ml)</b>	22	143,0	1936,8	477,9	387,0
<b>CORT (ng/ml)</b>	22	14,07	86,48	33,28	16,95
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	22	0,230	125,9	24,94	26,19
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	22	0,260	65,89	8,100	13,85

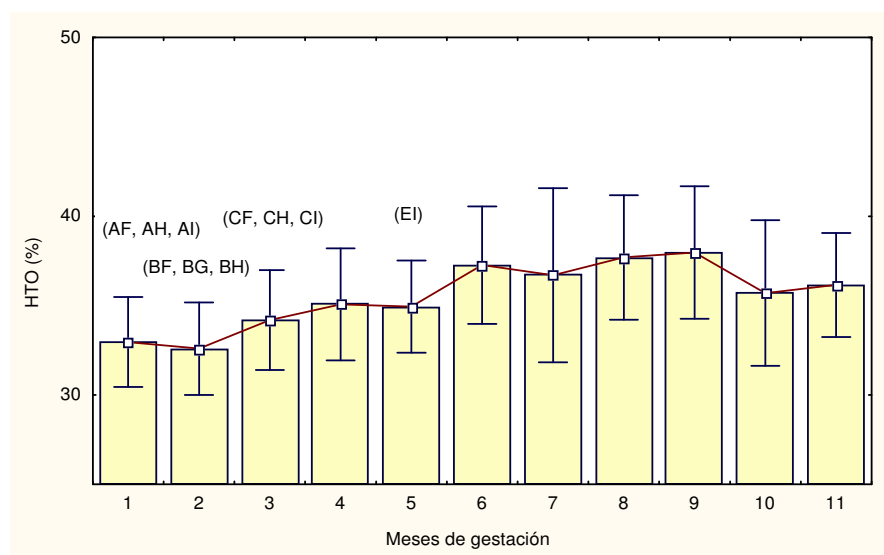
**Tabla 14.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el décimo mes de gestación (*HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona*).



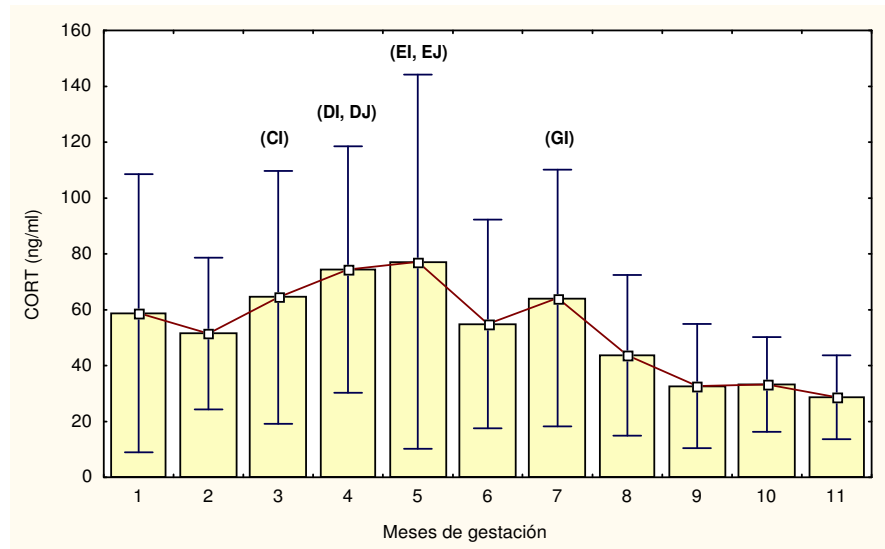
	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	11	32,50	41,00	36,16	2,920
<b>PPT (gr/dl)</b>	11	6,340	7,480	6,620	0,810
<b>NA (mmol/l)</b>	11	130,00	164,0	150,4	11,79
<b>K (mmol/l)</b>	11	3,200	4,100	3,590	0,450
<b>CL (mmol/l)</b>	11	99,00	120,0	109,9	6,590
<b>REN (pg/ml)</b>	11	3,200	8,390	7,230	1,810
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	11	0,070	4,640	0,920	1,650
<b>ALDO (pg/ml)</b>	11	178,0	1403	628,8	449,1
<b>CORT (ng/ml)</b>	11	12,02	59,11	28,77	15,02
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	11	1,790	83,34	24,27	26,94
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	11	0,050	40,25	13,56	14,89

**Tabla 15.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el décimo primer mes de gestación (HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona).

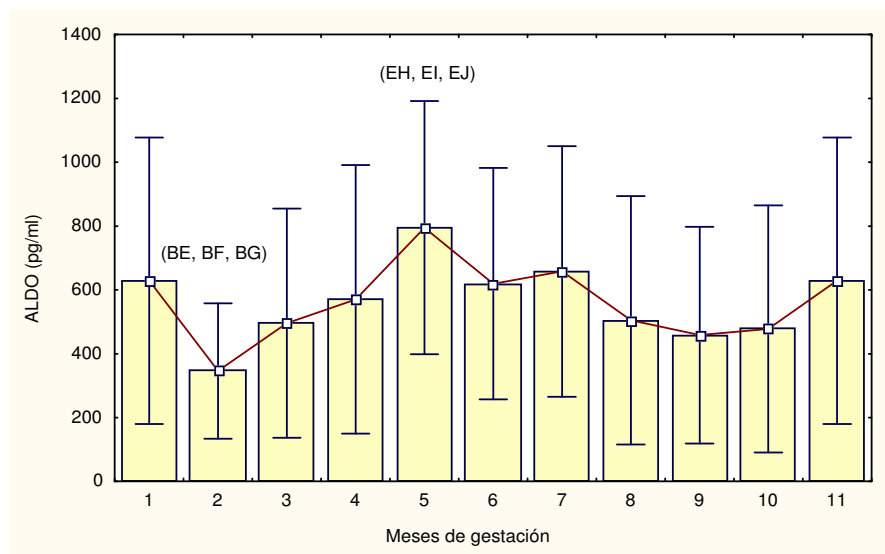
El análisis de variación entre los meses de gestación reveló variaciones estadísticamente significativas en el valor hematócrito (Figura 2) y las concentraciones de cortisol (Figura 3), aldosterona (Figura 4), renina (Figura 5), progesterona (Figura 6) y sulfato de estrona (Figura 7).



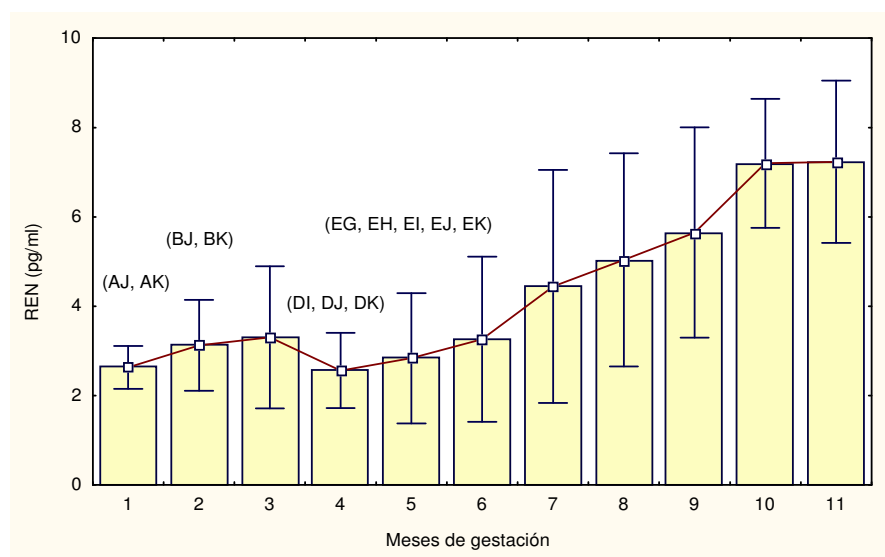
**FIGURA 2.**-Valores medios  $\pm$  DS del valor hematócrito a lo largo de los 11 meses de gestación en las 31 yeguas PRE (AF: diferencias entre el primer y sexto mes; AH: diferencias entre el primer y octavo mes; AI: diferencias entre el primer y noveno mes; BF: diferencias entre el segundo y sexto mes; BG: diferencias entre el segundo y séptimo mes; BH: diferencias entre el segundo y octavo mes; CF: diferencias entre el tercer y sexto mes; CH: diferencias entre el tercer y octavo mes; CI: diferencias entre el tercer y noveno mes; EI: diferencias entre el quinto y noveno mes) ( $p < 0,05$ ).



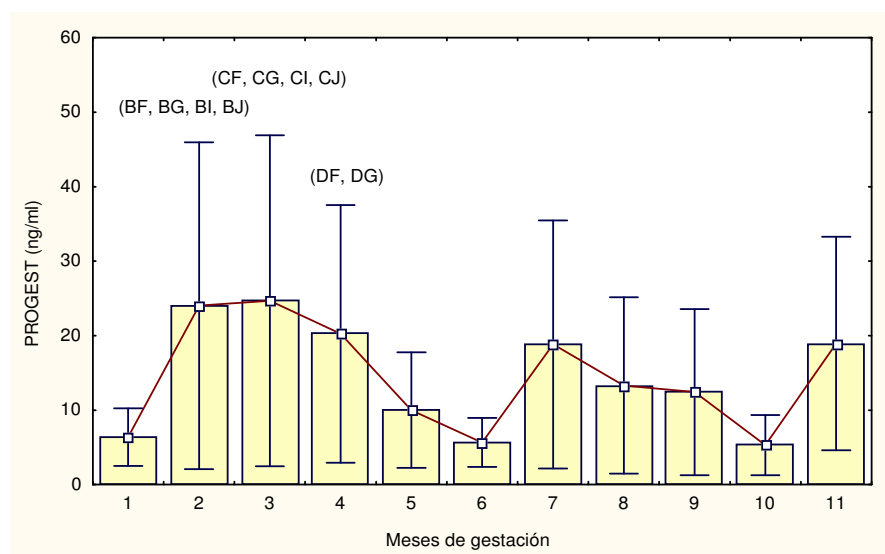
**FIGURA 3.**-Valores medios  $\pm$  DS de las concentraciones de cortisol a lo largo de los 11 meses de gestación en las 31 yeguas PRE (CI: diferencias entre el tercer y noveno mes; DI: diferencias entre el cuarto y noveno mes; DJ: diferencias entre el cuarto y décimo mes; EI: diferencias entre el quinto y noveno mes; EJ: diferencias entre el quinto y décimo mes; GI: diferencias entre el séptimo y noveno mes) ( $p < 0,05$ ).



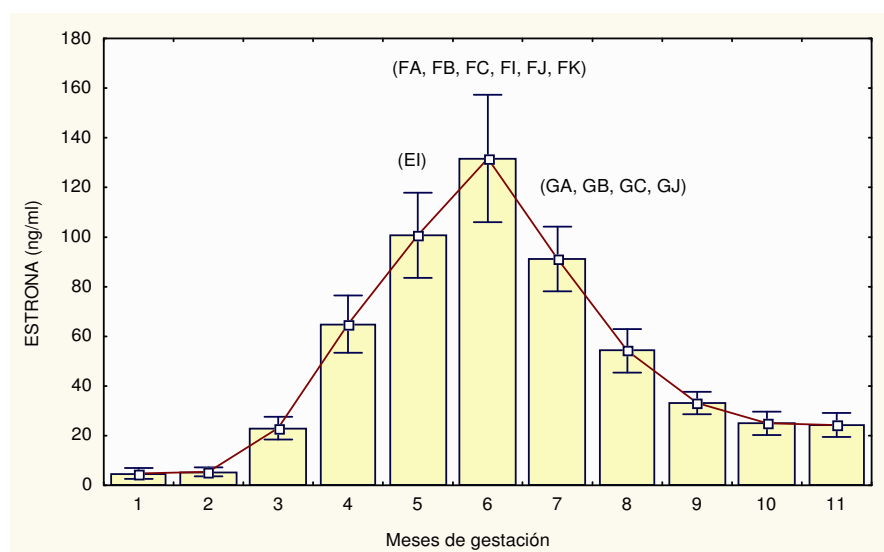
**FIGURA 4.**-Valores medios  $\pm$  DS de las concentraciones de aldosterona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 31 yeguas PRE (BE: diferencias entre el segundo y quinto mes; BF: diferencias entre el segundo y sexto mes; BG: diferencias entre el segundo y séptimo mes; EH: diferencias entre el quinto y octavo mes; EI: diferencias entre el quinto y noveno mes; EJ: diferencias entre el quinto y décimo mes) ( $p < 0,05$ ).



**FIGURA 5.**-Valores medios  $\pm$  DS de las concentraciones de renina a lo largo de los 11 meses de gestación en las 31 yeguas PRE (AJ: diferencias entre el primer y décimo mes; AK: diferencias entre el primer y décimo primer mes; BJ: diferencias entre el segundo y décimo mes; BK: diferencias entre el segundo y décimo primer mes; DI: diferencias entre el cuarto y noveno mes; DJ: diferencias entre el cuarto y décimo mes; DK: diferencias entre el cuarto y décimo primer mes; EG: diferencias entre el quinto y séptimo mes; EH: diferencias entre el quinto y octavo mes; EI: diferencias entre el quinto y noveno mes; EJ: diferencias entre el quinto y décimo mes; EK: diferencias entre el quinto y décimo primer mes) ( $p < 0,05$ ).



**FIGURA 6.**-Valores medios  $\pm$  DS de las concentraciones de progesterona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 31 yeguas PRE (BF: diferencias entre el segundo y sexto mes; BG: diferencias entre el segundo y séptimo mes; BI: diferencias entre el segundo y noveno mes; BJ: diferencias entre el segundo y décimo mes; CF: diferencias entre el tercer y sexto 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; DF: diferencias entre el cuarto y sexto mes; DG: diferencias entre el cuarto y séptimo mes) ( $p < 0,05$ ).



**FIGURA 7.**-Valores medios  $\pm$  DS de las concentraciones de sulfato de estrona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 31 yeguas PRE (FA: diferencias entre el primer y sexto mes; FB: diferencias entre el segundo y sexto mes; FC: diferencias entre el tercer y sexto 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; EI: diferencias entre el quinto y noveno mes; GA: diferencias entre el primer y séptimo mes; GB: diferencias entre el segundo y séptimo mes; GC: diferencias entre el tercer y séptimo mes; GJ: diferencias entre el séptimo y décimo mes) ( $p < 0,05$ ).

En las tablas 16, 17 y 18 se presentan los estadísticos básicos de las variables hematológicas, bioquímicas y hormonales correspondientes a los tres periodos de gestación de modo respectivo.

	N	MINIMO	MAXIMO	MEDIA	DS
<b>HTO (%)</b>	69	30,67	38,80	34,06	2,220
<b>PPT (gr/dl)</b>	69	6,230	7,600	6,930	0,650
<b>NA (mmol/l)</b>	69	131,0	164,1	146,4	9,220
<b>K (mmol/l)</b>	69	2,900	4,450	3,540	0,520
<b>CL (mmol/l)</b>	69	99,25	120,0	106,5	5,720
<b>REN (pg/ml)</b>	69	2,150	6,000	2,900	0,810
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	69	0,140	3,480	0,930	1,060
<b>ALDO (pg/ml)</b>	69	190,6	1208	513,1	296,9
<b>CORT (ng/ml)</b>	69	14,12	167,9	59,70	29,99
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	69	0,010	133,2	29,73	28,79
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	69	2,690	69,21	20,33	16,49

**Tabla 16.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el periodo de gestación I (HTO: valor hematocrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona).

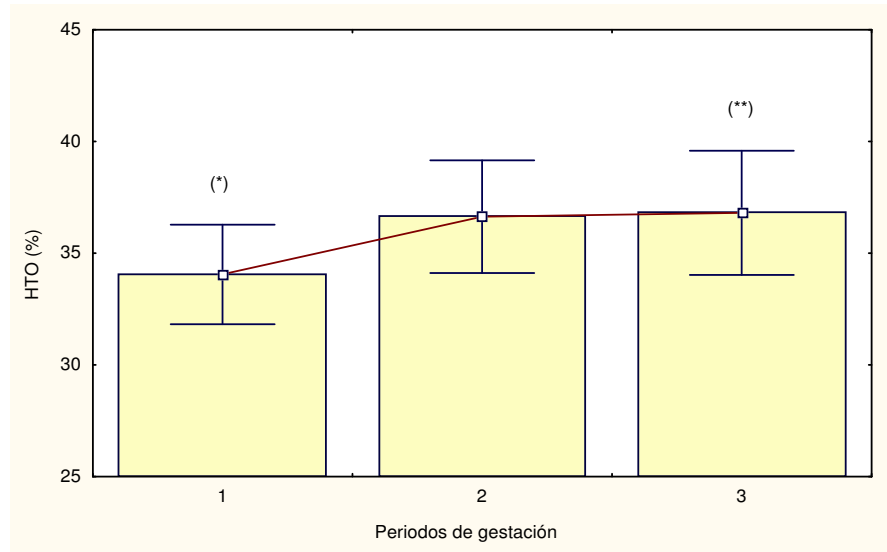
	N	MINIMO	MAXIMO	MEDIA	DS
<b>HTO (%)</b>	102	31,48	41,53	36,64	2,530
<b>PPT (gr/dl)</b>	102	6,120	8,340	6,900	0,660
<b>NA (mmol/l)</b>	102	131,0	164,0	148,5	9,520
<b>K (mmol/l)</b>	102	3,100	4,830	3,600	0,740
<b>CL (mmol/l)</b>	102	98,50	122,0	107,7	6,360
<b>REN (pg/ml)</b>	102	2,030	6,580	3,990	1,390
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	102	0,160	3,840	1,350	0,990
<b>ALDO (pg/ml)</b>	102	295,8	1173	669,7	243,1
<b>CORT (ng/ml)</b>	102	24,23	136,5	62,30	28,56
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	102	0,430	225,9	92,60	58,02
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	102	2,110	42,40	8,950	8,690

**Tabla 17.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el periodo de gestación II (*HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona*).

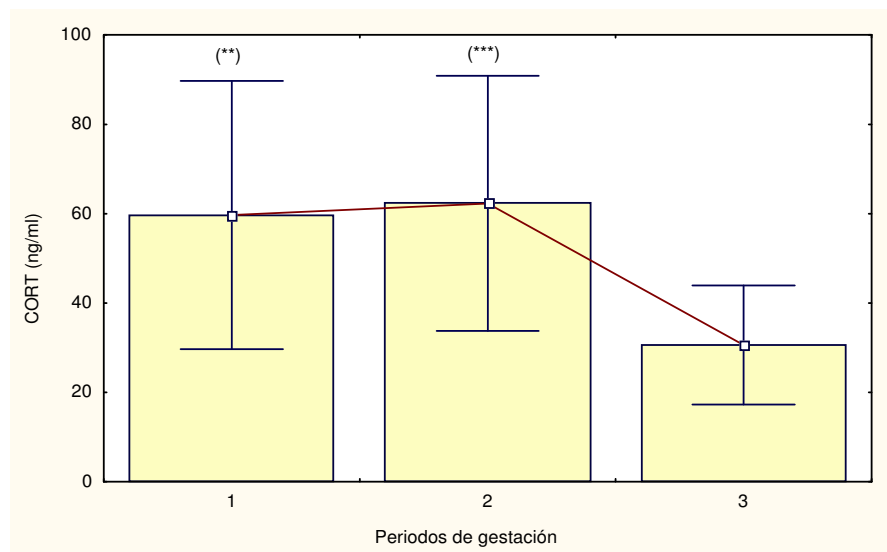
	N	MINIMO	MAXIMO	MEDIA	DS
<b>HTO (%)</b>	103	31,35	44,70	36,51	2,610
<b>PPT (gr/dl)</b>	103	6,130	7,510	6,810	0,710
<b>NA (mmol/l)</b>	103	134,0	164,0	147,5	8,990
<b>K (mmol/l)</b>	103	3,000	4,700	3,610	0,630
<b>CL (mmol/l)</b>	103	88,00	120,5	107,9	5,790
<b>REN (pg/ml)</b>	103	2,440	8,240	6,430	1,480
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	103	0,080	4,460	1,660	1,600
<b>ALDO (pg/ml)</b>	103	136,4	1304	462,8	306,0
<b>CORT (ng/ml)</b>	103	12,50	60,24	30,31	12,57
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	103	0,840	68,43	29,54	17,36
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	103	0,110	43,21	7,880	8,910

**Tabla 18.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el periodo de gestación III (*HTO: valor hematócrito; PPT: concentración de proteínas plasmáticas totales; NA: sodio; K: potasio; CL: cloro, REN: renina, ANG-II: angiotensina II; ALDO: aldosterona, CORT: cortisol; ESTRONA: sulfato de estrona; PROGEST: progesterona*).

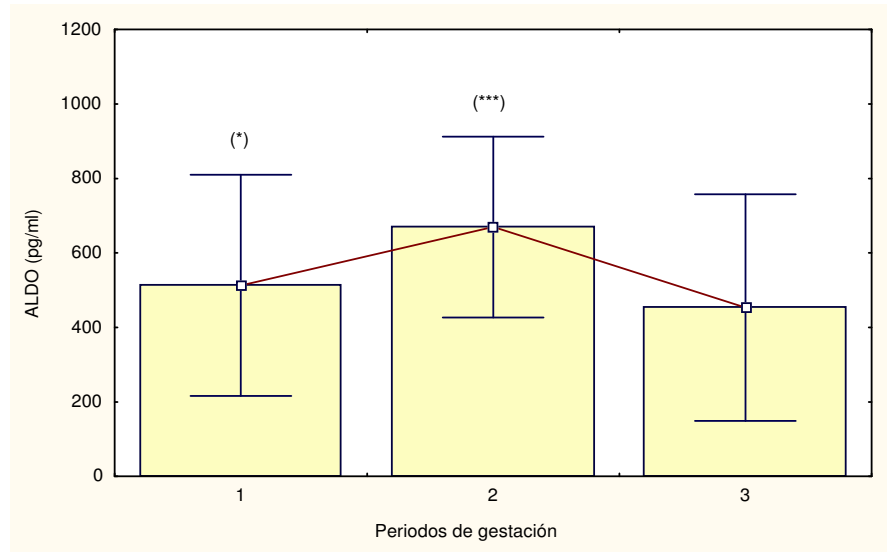
El análisis de variación entre los distintos periodos de gestación mostró diferencias significativas en el valor hematócrito (Figura 8) y en las concentraciones hormonales de cortisol (Figura 9), aldosterona (Figura 10), renina (Figura 11), progesterona (Figura 12) y sulfato de estrona (Figura 13).



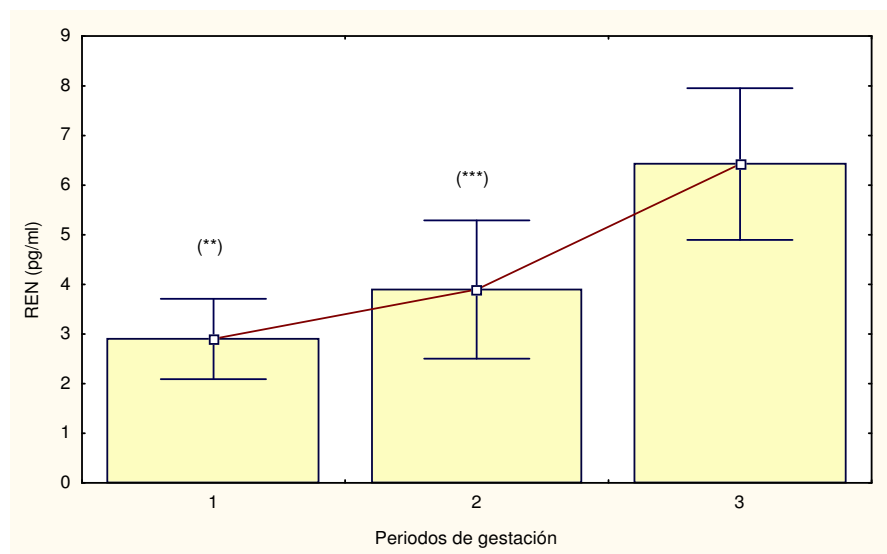
**FIGURA 8.**-Diferencias estadísticamente significativas en el valor hematócrito entre los tres periodos de gestación en las 31 yeguas PRE (\*: diferencias entre los periodos de gestación primero y segundo; \*\*: diferencias entre los periodos de gestación primero y tercero) ( $p < 0,05$ ).



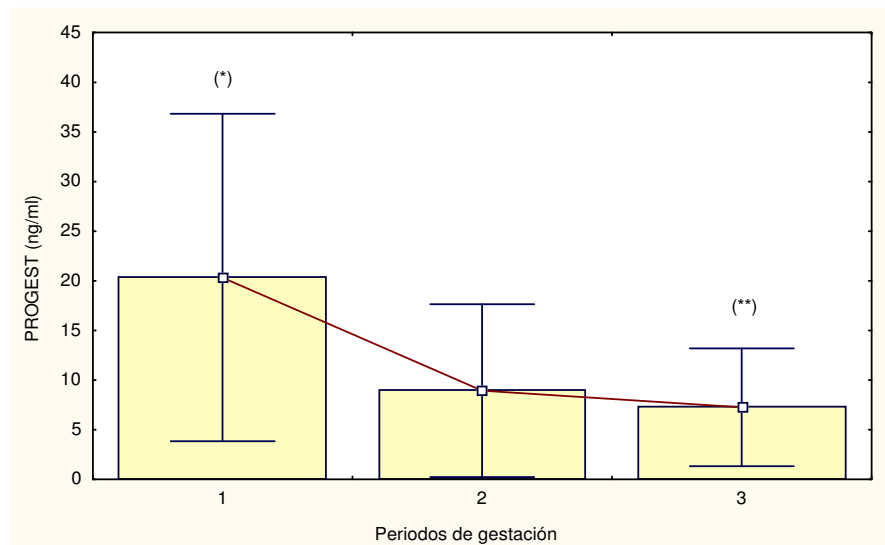
**FIGURA 9.**-Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de cortisol entre los tres periodos de gestación en las 31 yeguas PRE (\*\*: diferencias entre los periodos de gestación primero y tercero; \*\*\*: diferencias entre los periodos de gestación segundo y tercero) ( $p < 0,05$ ).



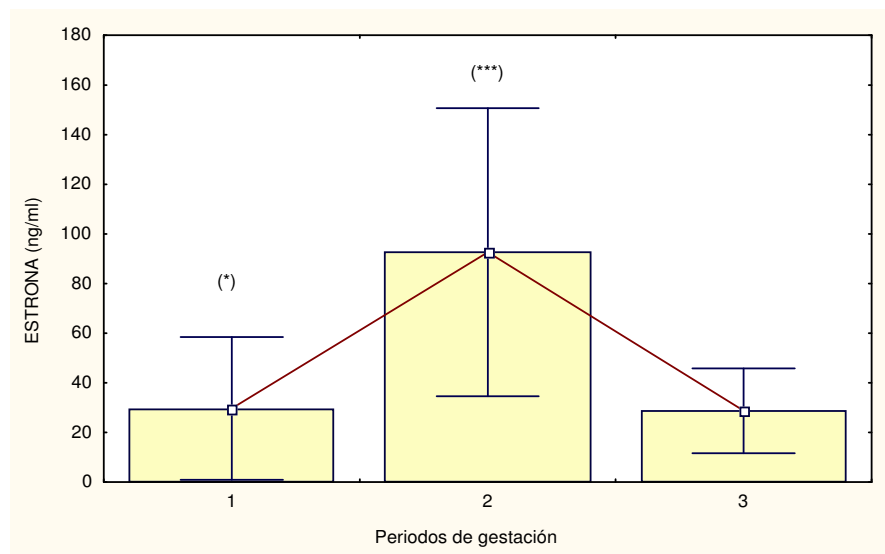
**FIGURA 10.**-Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de aldosterona entre los tres periodos de gestación en las 31 yeguas PRE (\*: diferencias entre los periodos de gestación primero y segundo; \*\*\*: diferencias entre los periodos de gestación segundo y tercero) ( $p < 0,05$ ).



**FIGURA 11.**-Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de renina entre los tres periodos de gestación en las 31 yeguas PRE (\*\*: diferencias entre los periodos de gestación primero y tercero; \*\*\*: diferencias entre los periodos de gestación segundo y tercero) ( $p < 0,05$ ).



**FIGURA 12.-**Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de progesterona entre los tres periodos de gestación en las 31 yeguas PRE (\*: diferencias entre los periodos de gestación primero y segundo; \*\*: diferencias entre los periodos de gestación primero y tercero) ( $p < 0,05$ ).



**FIGURA 13.-**Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de sulfato de estrona entre los tres periodos de gestación en las 31 yeguas PRE (\*: diferencias entre los periodos de gestación primero y segundo; \*\*\*: diferencias entre los periodos de gestación segundo y tercero) ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3.- INFLUENCIA DE LA EDAD SOBRE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES EN LA YEGUA PRE

En las tablas 19, 20 y 21 se presentan los estadísticos básicos de las variables hematológicas, bioquímicas y hormonales correspondientes a los tres grupos de edad.



	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	187	31,00	46,00	35,64	3,880
<b>PPT (gr/dl)</b>	187	6,200	7,800	6,830	0,810
<b>NA (mmol/l)</b>	187	130,0	164,0	148,7	10,97
<b>K (mmol/l)</b>	187	3,200	4,600	3,590	0,830
<b>CL (mmol/l)</b>	187	91,00	121,0	107,9	6,970
<b>REN (pg/ml)</b>	187	1,560	9,260	4,290	2,380
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	187	0,070	7,660	1,330	1,590
<b>ALDO (pg/ml)</b>	173	106,6	1937	596,0	412,5
<b>CORT (ng/ml)</b>	186	4,210	281,3	59,75	48,22
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	185	0,010	745,1	54,07	80,64
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	187	0,030	164,6	12,75	19,90

**Tabla 19.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las yeguas PRE del grupo de edad A (*HTO*: valor hematócrito; *PPT*: concentración de proteínas plasmáticas totales; *NA*: sodio; *K*: potasio; *CL*: cloro, *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALDO*: aldosterona, *CORT*: cortisol; *ESTRONA*: sulfato de estrona; *PROGEST*: progesterona).

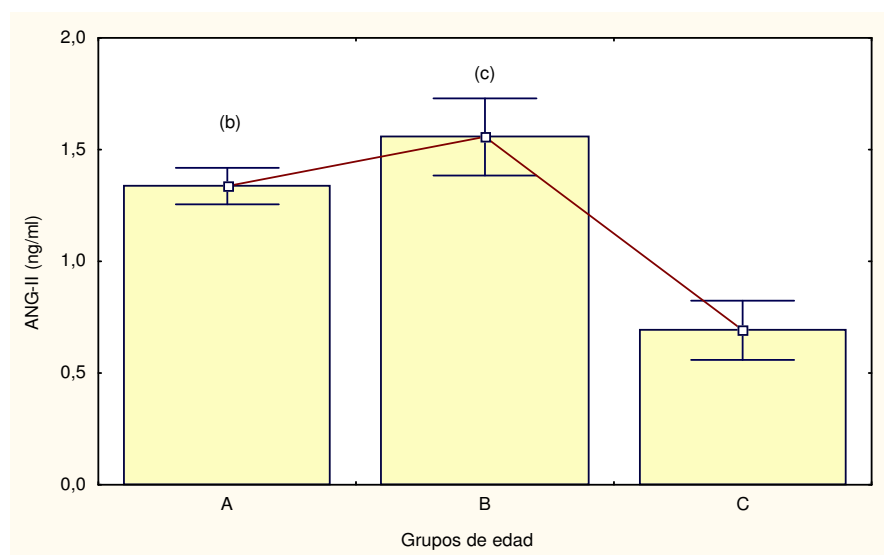
	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	52	30,00	42,40	35,84	3,080
<b>PPT (gr/dl)</b>	52	6,200	8,500	7,260	0,640
<b>NA (mmol/l)</b>	52	130,0	163,0	148,1	9,950
<b>K (mmol/l)</b>	52	3,400	4,600	3,660	0,870
<b>CL (mmol/l)</b>	52	88,00	122,0	107,8	6,850
<b>REN (pg/ml)</b>	52	1,440	8,840	4,110	2,410
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	52	0,070	6,690	1,500	1,640
<b>ALDO (pg/ml)</b>	49	101,5	1413	534,5	293,3
<b>CORT (ng/ml)</b>	52	7,480	154,2	49,83	38,92
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	52	0,220	414,5	69,08	76,54
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	52	0,620	91,40	13,42	16,52

**Tabla 20.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las yeguas PRE del grupo de edad B (*HTO*: valor hematócrito; *PPT*: concentración de proteínas plasmáticas totales; *NA*: sodio; *K*: potasio; *CL*: cloro, *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALDO*: aldosterona, *CORT*: cortisol; *ESTRONA*: sulfato de estrona; *PROGEST*: progesterona).

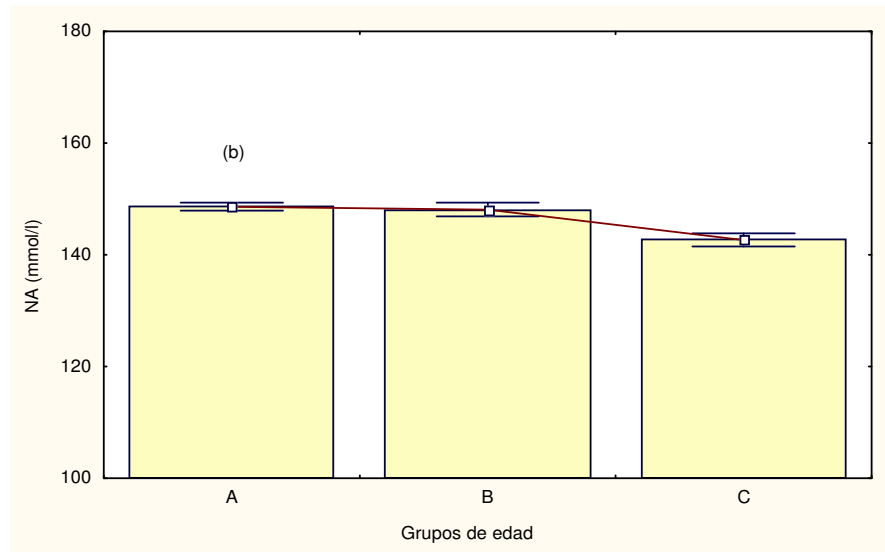
	<b>N</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Media</b>	<b>DS</b>
<b>HTO (%)</b>	35	31,00	50,00	36,76	4,120
<b>PPT (gr/dl)</b>	35	6,000	7,600	6,580	0,520
<b>NA (mmol/l)</b>	35	131,0	158,0	142,7	7,720
<b>K (mmol/l)</b>	35	3,100	4,500	3,570	0,680
<b>CL (mmol/l)</b>	35	91,00	113,0	104,3	4,400
<b>REN (pg/ml)</b>	35	1,920	8,400	3,650	2,020
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	35	0,050	5,610	0,660	1,100
<b>ALDO (pg/ml)</b>	33	120,4	1794	426,3	350,0
<b>CORT (ng/ml)</b>	35	13,04	142,5	42,37	28,01
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	35	0,050	371,4	65,55	73,42
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	33	0,980	67,48	12,75	16,94

**Tabla 21.**-Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las yeguas PRE del grupo de edad C (*HTO*: valor hematócrito; *PPT*: concentración de proteínas plasmáticas totales; *NA*: sodio; *K*: potasio; *CL*: cloro, *REN*: renina, *ANG-II*: angiotensina II; *ALDO*: aldosterona, *CORT*: cortisol; *ESTRONA*: sulfato de estrona; *PROGEST*: progesterona).

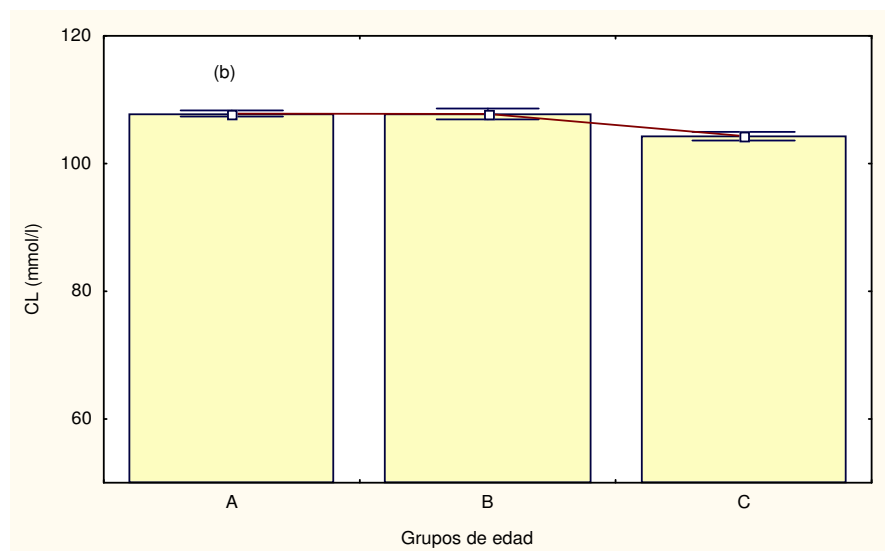
El análisis de variación mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos de edad para la concentración de angiotensina II (Figura 14) y las concentraciones de sodio (Figura 15) y cloro (Figura 16).



**FIGURA 14.**-Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de angiotensina II entre los tres grupos de edad en las 31 yeguas PRE (*b*: diferencias entre los grupos de edad A y C; *c*: diferencias entre los grupos de edad B y C) ( $p < 0,05$ ).



**FIGURA 15.**-Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de sodio entre los tres grupos de edad en las 31 yeguas PRE (*b*: diferencias entre los grupos de edad A y C) ( $p < 0,05$ ).



**FIGURA 16.**-Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de cloro entre los tres grupos de edad en las 31 yeguas PRE (*b*: diferencias entre los grupos de edad A y C) ( $p < 0,05$ ).

#### **4.4.-CORRELACIONES ENTRE LOS DIVERSOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES EN LA YEGUA PRE**

En la tabla 22 se muestran los coeficientes de correlación para las variables hematológicas, bioquímicas y hormonales analizadas en el efectivo total de yeguas PRE.

Las correlaciones obtenidas por periodos de gestación son similares a las presentadas para el conjunto de la población equina analizada. Por este motivo, se ha obviado su presentación en esta investigación.

	<b>CORT</b>	<b>ALDO</b>	<b>REN</b>	<b>ANG-II</b>	<b>PROGEST</b>
	<b>(ng/dl)</b>	<b>(pg/ml)</b>	<b>(pg/ml)</b>	<b>(ng/ml)</b>	<b>ng/ml)</b>
<b>CORT (ng/ml)</b>	1,00	0,31*	-0,30*	0,08	-0,02
<b>ALDO (pg/ml)</b>		1,00	-0,22*	0,32*	0,05
<b>REN (pg/ml)</b>			1,00	0,10	-0,03
<b>ANG-II (ng/ml)</b>				1,00	0,02
<b>PROGEST (ng/ml)</b>					1,00
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>					
<b>HTO (%)</b>					
<b>PPT (gr/dl)</b>					
<b>Na (mmol/l)</b>					
<b>K (mmol/l)</b>					
<b>Cl (mmol/l)</b>					

	<b>ESTRONA</b>	<b>HTO</b>	<b>PPT</b>	<b>Na</b>	<b>K</b>	<b>Cl</b>
	<b>(ng/ml)</b>	<b>(%)</b>	<b>(gr/dl)</b>	<b>(mmol/l)</b>	<b>(mmol/l)</b>	<b>(mmol/l)</b>
<b>CORT (ng/ml)</b>	0,05	-0,11	0,19	0,18	0,09	0,13
<b>ALDO (pg/ml)</b>	0,26*	0,01	0,20*	0,06	0,14	0,05
<b>REN (pg/ml)</b>	-0,11	0,28*	-0,10	-0,01	-0,15	0,05
<b>ANG-II (ng/ml)</b>	0,09	-0,11	0,13	0,07	-0,09	0,08
<b>PROGEST (ng/ml)</b>	-0,04	-0,07	-0,02	-0,08	-0,06	-0,10
<b>ESTRONA (ng/ml)</b>	1,00	0,18*	-0,06	-0,13	-0,04	-0,13
<b>HTO (%)</b>		1,00	0,02	-0,06	-0,13	-0,06
<b>PPT (gr/dl)</b>			1,00	0,18*	0,03	0,22*
<b>Na (mmol/l)</b>				1,00	0,25*	0,95*
<b>K (mmol/l)</b>					1,00	0,30*
<b>Cl (mmol/l)</b>						1,00

**TABLA 22.-**Coeficientes de correlación entre los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE (\*: *significativo p<0,05*).

## **5. DISCUSIÓN**

La presente investigación evalúa los valores hematológicos, bioquímicos y hormonales basales de 31 yeguas PRE a lo largo de la gestación, durante un periodo completo de estudio de 11 meses y sobre un total de 274 extracciones sanguíneas. Se han considerado dos factores que pueden condicionar modificaciones hematológicas, bioquímicas y hormonales, como el periodo de gestación (I, II y III) y la edad de la yegua (A, B y C). A lo largo de la discusión se compararán los datos obtenidos con los presentados en la literatura para diversas razas equinas, con una mención especial para el caballo PRE y se propondrán hipótesis para explicar los resultados obtenidos. Dentro de cada uno de los apartados, se justificarán las correlaciones obtenidas entre los diversos parámetros.

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

#### **5.1.1.-PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE**

##### **5.1.1.1.-VALOR HEMATÓCRITO**

El valor hematócrito medio de las yeguas PRE, aunque estuvo comprendido dentro de los límites fisiológicos de referencia para la especie equina (Schalm y cols., 1975; Schalm y Carlson, 1982; Harvey y Hambright, 1985; Tyler y cols., 1987; Plotka y cols., 1988; Ralston y cols., 1988; Blood y Radostic, 1989; Morris, 1990; Latimer y Rakich, 1992; Lassen y Swardson, 1995; Messer, 1995; Pastor y cols., 1995; Greppi y cols., 1996; Piccione y cols., 2001), fue inferior a los datos presentados para caballos PSI (Irvine, 1958; Mason y Kwok, 1977; Lumsden y cols., 1980; Revington, 1983; Lassen y Swardson, 1995), Lippizanos (Cebulj-Kadunc y cols., 2002), trotones Standardbred, Cuartos de Milla, Appaloosa y Árabes (Knill y cols., 1969; Coles, 1974; Schalm y cols., 1975; Schalm y Carlson, 1982; Harvey y Hambright, 1985; Jain, 1993; Lassen y Swardson, 1995; Kastner y cols., 1999; Wickler y Anderson, 2000) y similar a los obtenidos en Clydesdale, Percherón y caballo miniatura (Schalm y cols., 1975; Harvey y Hambright, 1985).

Cabe destacar que el valor hematócrito de las yeguas PRE fue similar al descrito en yeguas puerperales PRE y Árabes (Manso y cols., 1998), observándose gran afinidad entre ambas razas. Sin embargo, se citan valores medios superiores en yeguas adultas

sanas de la misma raza (Plaschka y cols., 1996), PSI (Hansen y cols., 1950, a; Hansen y Tood, 1951; Trum, 1951; Mason y Kwok, 1977; Harvey y cols., 1994; Taylor Macallister y cols., 1997), Quarter Horse (Harvey y cols., 1994; Taylor Macallister y cols., 1997) y Árabes (Berlink y cols., 2000) durante el mismo periodo reproductivo. Se podría concluir aún con ligeras modificaciones, que la yegua PRE gestante difiere muy poco en los valores eritrocitarios en relación a las yeguas preñadas de otras razas.

La evaluación conjunta de los datos aportados por los diferentes investigadores, indica que la variedad racial en la especie equina tiene un peso específico notable en el desarrollo de las modificaciones eritrocitarias. A tal fin, desde el punto de vista hematológico, las razas equinas se clasifican en dos grandes grupos: de sangre caliente y de sangre fría. La variedad de sangre caliente (*hot-blooded*) comprende a la mayor parte de los caballos de deporte, como PSI, Árabes, Angloárabes, Appaloosas, Cuartos de Milla, trotones Standardbred... La variedad de sangre fría (*cold-blooded*) recoge a las razas pesadas, como Percherón, Clydesdale y las razas de ponies (McLeod y Ponder, 1946; Schalm, 1964; Coles, 1974; Jain, 1993; Parry y Brobt, 1997). Se estima que el número de eritrocitos, la cantidad de hemoglobina y el valor hematócrito son mayores en el conjunto de razas de sangre caliente en comparación con las de sangre fría.

Las diferencias hematológicas entre ambos grupos de razas podrían derivar del temperamento del animal. Se acepta que los animales de razas pesadas suelen ser menos excitables que los de razas ligeras. Por ello, la esplenotomía derivada de la liberación de hormonas simpáticas tras la excitación por venipunción, debe ser de menor magnitud en el primer grupo de caballos (Hanson y cols., 1995). Además, Kline y Foreman (1991) mostraron que el tamaño del bazo era inferior en relación al tamaño corporal en este tipo de razas, en comparación con las razas ligeras. Otro de los factores que podrían haber condicionado dichas variaciones es la menor necesidad de oxígeno en los tejidos metabólicamente activos (Rubio y cols., 1995). El caballo PRE se utiliza como animal de paseo, en centros hípicas en determinadas disciplinas de doma clásica, doma vaquera, alta escuela y rejoneo. En todos estos casos, los requerimientos energéticos oxidativos son notablemente inferiores a los de otras disciplinas ecuestres, como carreras de velocidad, concurso completo de equitación o pruebas de resistencia (Rose y Hodgson, 1994; Muñoz y cols., 1999; Tyler-McGowan y cols., 1999; Piccione y cols., 2007). Los programas de entrenamiento y ejercicio que actualmente se imponen a los caballos PRE no elevan sustancialmente el número de glóbulos rojos, la concentración de hemoglobina y el valor hematócrito, de ahí, los resultados medios obtenidos en la mayoría de trabajos de investigación con caballos españoles entrenados, en comparación con otras razas equinas.

El valor hematócrito medio derivado de la presente investigación fue inferior al obtenido en la yegua PRE de Estirpe Cartujana (Satué, 2004) durante el mismo periodo reproductivo. En principio, las diferencias entre ambas investigaciones podrían ser debidas al método analítico empleado en el análisis hematológico. Mientras Satué (2004) utilizó un método de análisis semiautomático, en el presente estudio, el microhematócrito fue la técnica de determinación del hematócrito. Se conoce que el método semiautomático tiene en cuenta la fracción del volumen de sangre entera ocupada por los hematíes, mientras que la columna de plasma que queda retenida entre las células sanguíneas es casi prácticamente nula con el uso del microhematócrito (N.C.C.L.S., 1995).

Asimismo, el valor hematócrito en las yeguas de la presente investigación fue ligeramente inferior al citado en la bibliografía para esta misma raza (Agüera y cols., 1994; Rubio y cols., 1994; 1995; Escribano y cols., 1995 a, b) y para el caballo Lusitano (Gouveia, 2003). Los datos aportados por estos investigadores procedían en su inmensa mayoría de animales de sexo macho en respuesta a un ejercicio programado o entrenamiento. En primer lugar habría que considerar el efecto del sexo. Se conoce que en los sementales, los valores hematológicos basales son superiores a los de las hembras. Este hecho deriva de la actuación de los andrógenos sobre la eritropoyesis (Persson y Ullberg, 1974). En segundo lugar, hay que considerar el efecto del entrenamiento. Se ha descrito que la respuesta hematológica al entrenamiento viene determinada por el incremento del número de eritrocitos, de la concentración de hemoglobina y del valor hematócrito. Dicha elevación de los parámetros eritrocitarios representa la redistribución de eritrocitos en el pool circulante, tras esplenotransfusión por un mecanismo  $\alpha$ -adrenérgico que actúa sobre la musculatura lisa del bazo (Persson, 1967; Rose y Allen, 1985; Carlson, 1987). Dicho mecanismo de autotransfusión sanguínea incrementa la capacidad de transporte de oxígeno a nivel tisular (Rose y Hodgson, 1983; Rose y Allen, 1985; Thornton, 1985; Swenson y Reece, 1993). Por otro lado, se conoce que el deporte en équidos estimula el SRAA, motivando una mayor retención de sodio y agua a nivel renal, con el consiguiente efecto de hemodilución en sangre periférica, como se ha descrito en caballos de resistencia (Masri y cols., 1990; McKeever y cols., 2002).

Otro aspecto a considerar es el momento del día de extracción de las muestras sanguíneas. Se conoce que la alimentación induce una ligera hemoconcentración, derivada de la pérdida de fluidos con la salivación e incremento del flujo sanguíneo hacia el tracto gastrointestinal (Kerr y Snow, 1982; Sufit y cols., 1985). En la presente investigación, la venipunción siempre se practicó por la mañana, los animales



permanecían en régimen de ayuno hasta el momento de la extracción de la muestra sanguínea. De esta forma, se habrían minimizado las modificaciones derivadas de la alimentación sobre el valor hematocrito.

La distribución estacional de las extracciones de sangre, podría ser otro de los factores implicados en las variaciones hematológicas observadas en la presente investigación. Concretamente, la obtención de datos en las yeguas PRE comprendió los meses de invierno y verano. Cabe suponer que las temperaturas más elevadas durante primavera y verano, así como la posible mayor actividad física de los animales en pastoreo, podrían haber tenido una cierta influencia en los resultados obtenidos en este trabajo. Estudios previos en yeguas reproductoras Árabes (Gill y Kompanowska-Jeziarska, 1986) y PSI (Gill y Kownacka, 1979) pusieron de manifiesto un incremento del número de glóbulos rojos, de la concentración de hemoglobina así como del valor hematocrito, en otoño e invierno con respecto al resto de estaciones del año. Estas variaciones se interpretaron en base a la aclimatación metabólica ambiental.

Estudios experimentales en roedores, mostraron que las bajas temperaturas invernales habrían requerido una elevada capacidad metabólica para la regulación de la temperatura corporal, sugiriendo un estímulo sobre la eritropoyesis, circunstancia que favorecería el mayor transporte de oxígeno y su posterior liberación a los tejidos (Sealand, 1964; Berry y Jakobson, 1975). Un tipo de respuesta similar, ha sido observada en équidos a la altitud (Wickler y Anderson, 2000). En la bibliografía, se cita que tanto la temperatura ambiental como el fotoperiodo en équidos, son factores que estimulan la adaptación estacional. De hecho, se conoce que la alternancia de periodos de luz y oscuridad alteran significativamente la actividad eritropoyética de la médula ósea (Haus, 1994).

Por último, no hay que olvidar factores como el manejo de la muestra y la actitud y grado de excitación del animal en el momento de la venipunción (Schalm, 1964; Archer y Jeffcott, 1977; Snow y cols., 1983; Jain, 1993; Rose y Hodgson, 1994; Car, 2000), que podrían haber condicionado variaciones en el hematocrito en las yeguas PRE de la presente investigación. Algunos trabajos indican que la excitación tras la contención física en el momento de la toma de muestras sanguíneas conlleva una elevación del valor hematocrito. Este hecho se produce como consecuencia de la contracción esplénica inducida por la acción de la adrenalina y de la noradrenalina (Kurosawa y cols., 1998; Nagata y cols., 1999).

### **5.1.1.2.-CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS PLASMÁTICAS TOTALES**

La concentración de proteínas plasmáticas totales en la yegua PRE estuvo comprendida dentro de los límites fisiológicos de referencia para équidos adultos sanos (Lumsden y cols., 1980; Butts y cols., 1982; Schalm y Carlson, 1992; Jain, 1993; Harvey y cols., 1994; Rose y Hodgson, 1994; Lassen y Swardson, 1995; Messer, 1995; Eades y Bounous, 1997; Satué, 2004; Mohri y cols., 2007).

En virtud de los datos hallados en este trabajo de investigación, se podría afirmar que el aporte alimenticio de las yeguas a lo largo de su ciclo reproductor fue correcto, a pesar del incremento en los requerimientos metabólicos que la gestación, el parto y la lactación conllevan. El control de la evolución de dicho parámetro es importante en una yeguada, donde existen animales en diferentes estados fisiológicos, con necesidades energéticas variadas, que deben ser suplidas por la dieta. Los objetivos que deben guiar los programas nutricionales destinados a las hembras gestantes, se basan en el correcto aporte de nutrientes, asegurando por un lado, el crecimiento y desarrollo fetal y de la unidad fetoplacentaria, y por otro, el desarrollo de la glándula mamaria y la producción de leche. Se constata en la bibliografía que la depleción dietaria de proteínas induce hipoproteinemia o hipoalbuminemia en diversas especies animales (Kaneko, 1997; Siciliano, 2002).

### **5.1.1.3.-CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ELECTROLITOS**

Los electrolitos sodio, potasio y cloro presentan funciones biológicas esenciales (conducción nerviosa, contracción muscular, actuación en el equilibrio hídrico y ácido-básico, mantenimiento de la volemia...), por lo que sus concentraciones plasmáticas suelen mantenerse dentro de unos límites bastante estrechos (Stockham, 1995; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006). Sin embargo, existen una gran variedad de procesos fisiopatológicos, como la región geográfica, climatología, momento estacional de la toma de muestras, sudoración, ejercicio, entrenamiento, alteraciones gastrointestinales y renales, entre otras, que podrían alterar significativamente los valores basales de los electrolitos plasmáticos en équidos.

#### **5.1.1.3.1.- SODIO**

Los valores medios de sodio en las yeguas de la presente investigación fueron similares a los descritos previamente en la bibliografía para caballos adultos sanos (Lumsden y cols., 1980; Kaneko y cols., 1997; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan,

1999; Muñoz y cols., 2006) y ligeramente inferiores a los presentados en yeguas de la misma raza (Plaschka y cols., 1996), PSI (Tasker, 1967; Rose, 1985), Quarter Horse (Harvey y cols., 1994; 2005) y Standardbred, Saddlebred y Morgan (Harvey y cols., 1994; 2005), si bien, diversos autores indican como fisiológicos niveles superiores a estos últimos (Soliman y Nadim, 1967; Rose y cols., 1980). Las explicaciones posibles a estas variaciones podrían radicar en el efecto de la región geográfica en la que se realizó el estudio, condiciones de humedad y temperatura de la zona, así como el momento estacional de la toma de muestras.

#### **5.1.1.3.2.- POTASIO**

Aunque el nivel medio de potasio para la totalidad de las yeguas de la presente investigación estuvo comprendido dentro de los límites de referencia para équidos adultos sanos (Art y cols., 1990; Rose y Hodgson, 1994; Ecker y Lindinger, 1995; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006), el intervalo fisiológico fue superior al resto de investigaciones. Si bien, la bibliografía sugiere que los niveles plasmáticos de potasio inferiores a 3 mmol/l indican depleción sistémica de este electrolito, los animales de la presente investigación que mostraron valores medios inferiores, no presentaron signos patológicos compatibles con hipocalcemia.

La concentración plasmática media de potasio en la yegua PRE fue similar a la descrita para équidos de raza Standardbred (Lumsden y cols., 1980), e inferior a la obtenida en yeguas de la misma raza (Plaschka y cols., 1996), Quarter Horse, Standardbred, Saddlebred y Morgan (Harvey y cols., 1994; 2005) y PSI (Rose, 1985). La diferencia entre los resultados podría provenir del efecto de la región geográfica y los cambios temporales a lo largo del proceso de recogida de la muestra.

#### **5.1.1.3.3.- CLORO**

La concentración plasmática media de cloro en la yegua PRE estuvo comprendida dentro del intervalo fisiológico para équidos adultos (Art y cols., 1990; Rose y Hodgson, 1994; Ecker y Lindinger, 1995; Kaneko, 1997; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, 1999; Muñoz y cols., 2006), fue similar a la obtenida en yeguas de la misma raza (Plaschka y cols., 1996), PSI (Lumsden y cols., 1980; Rose y cols., 1980) y Standardbred (Lumsden y cols., 1980) y superior a la descrita en Quarter Horse, Standardbred, Saddlebred y Morgan (Harvey y cols., 1994; 2005).

En la valoración del equilibrio hidroelectrolítico en équidos, es importante destacar la contribución del sudor a las variaciones que podrían producirse en las concentraciones de electrolitos plasmáticos. Diversos estudios de investigación han analizado la composición del sudor equino. Aunque el sudor es producido como un ultrafiltrado de un precursor líquido isotónico, de composición similar a la plasmática, posteriormente existe reabsorción de agua en el conducto, dando lugar a hipertonicidad (McConaghy y cols., 1995). Independientemente de la influencia de estos factores, el sodio y el cloro son los principales cationes del sudor equino, apreciándose concentraciones similares e incluso superiores a las plasmáticas (McConaghy y cols., 1995; Muñoz y cols., 2006). En la ausencia de variaciones en dichos electrolitos en las yeguas de la presente investigación, podría haber influido la acción sostenida de las concentraciones aldosterona y cortisol durante la gestación. Estas hormonas actúan reteniendo sodio tanto en el riñón, como en las glándulas sudoríparas, y favoreciendo su transporte a partir del tracto gastrointestinal (Carlson, 1983; Thornton, 1985). Aún con ligeras variaciones, el análisis de las concentraciones plasmáticas de electrolitos en las yeguas de la presente investigación sugiere un estado hidroelectrolítico correcto durante el periodo de toma de muestras.

## **5.1.2.-PARÁMETROS HORMONALES DE REFERENCIA EN LA YEGUA PRE**

### **5.1.2.1.- RENINA**

En comparación con los valores descritos para caballos adultos (Guthrie y cols., 1980; 1982) y ponis (Broughton Pipkin y cols., 1982; Forhead y cols., 2000) las yeguas PRE presentaron reninemias superiores, con valores comprendidos entre 1,44 y 9,26 pg/ml. La amplia distribución del intervalo de referencia y de la desviación estándar podría reflejar por un lado el efecto marcado de la gestación sobre dicho parámetro, aunque no debe obviarse el procedimiento de cuantificación hormonal y el efecto de la alimentación. Muchos équidos destinados a entrenamiento y ocio son alimentados con dietas altamente energéticas y pobres en forraje. La ingestión de este tipo de raciones estimula la retención de grandes volúmenes de fluidos en el compartimento gástrico, conllevando a un estado de hipovolemia transitoria (que puede llegar a cifrarse en un 15%). En esta situación, para contribuir a la preservación de la homeostasis de forma compensatoria, se activa el SRAA. Además, si estas raciones son de gran volumen, pueden acelerar el paso de ingesta al ciego y así, aumentar la biodisponibilidad de hidratos de carbono, provocando fermentaciones anómalas. Estos periodos de fermentación intensos requieren de nuevo movimientos de fluidos a la luz del ciego, que en parte, inducen la liberación de aldosterona (Clarke y cols., 1990; 1992). Tal vez, la suplementación

alimenticia administrada a las yeguas PRE al final de la gestación podría haber condicionado en parte, el incremento de los niveles de renina, a pesar de que la extracción de las muestras sanguíneas se realizó siempre en ayunas.

La concentración media de renina en la yegua PRE también fue superior a la obtenida en potros de la misma raza (Rovira, 2007). Cabe destacar que los animales incluidos en este último estudio eran menores de un año de edad, aunque la metodología empleada para la cuantificación hormonal fue la misma en ambas investigaciones. Sin embargo, en caballos PSI (McKeever y cols., 1992) y Standardbred (Andersson y cols., 1987) se alcanzaron valores medios superiores a los de la presente investigación, si bien, estos animales estaban en periodo de entrenamiento y practicaban ejercicio a diario. Se conoce que el ejercicio estimula el SRAA, y por tanto, los niveles basales de renina, ya que son hormonas entre otras, relacionadas con el control de la función cardiovascular, el balance hídrico y el estrés durante la actividad deportiva (McKeever y cols., 1991; 1992; Cooley y cols., 1994).

#### **5.1.2.2.- ANGIOTENSINA II**

La concentración de angiotensina II en las yeguas de la presente investigación estuvo comprendida dentro del intervalo de referencia descrito en équidos adultos no gestantes (Broughton Pipkin y cols., 1982; Ibarra-Rubio y cols., 1989; Hinckley y cols., 1996). A pesar del amplio margen de variación de los datos en la totalidad de yeguas PRE (0,05-7,66 ng/ml), los valores medios fueron similares a los obtenidos en potros PRE menores de un año (Rovira, 2007). Cabe destacar que la metodología empleada para la cuantificación hormonal en ambas investigaciones fue la misma.

Sin embargo, se citan valores medios inferiores a los de la presente investigación en ponis Welsh (Forhead y cols., 2000). Hay que puntualizar que los datos de este último estudio corresponden a niveles tanto maternos como fetales en el segundo periodo de gestación. También se han mostrado valores inferiores en la mujer (Gordon y cols., 1973; Skinner y cols., 1975; Godard y cols., 1976; Symonds y cols., 1976; Symonds, 1981; Tetlow y cols., 1983; Tao y cols., 2007) y en otras especies animales, como ovejas (Broughton Pipkin y cols., 1974, b; Forhead y cols., 1997) durante el mismo periodo reproductivo. La mayoría de estos estudios analizaron la relación existente entre los niveles de angiotensina II en momentos próximos al parto entre la madre y el feto. En todos los casos los niveles fetales superaron los maternos, indicando que este péptido juega un papel crucial en la regulación de la circulación fetoplacentaria, facilitando el flujo sanguíneo adecuado para la correcta oxigenación y nutrición fetal (Nielsen y cols., 2000;

Shibata y cols., 2006). A pesar de estas observaciones, en la mujer se han descrito valores medios superiores a los de la presente investigación (Broughton Pipkin y Baker, 1997). Tanto el balance de sodio como el estrés en el momento del parto podrían haber desencadenado las diferencias en los resultados de dichas investigaciones.

### **5.1.2.3.- ALDOSTERONA**

En comparación con los valores descritos para caballos adultos (McKeever y cols., 1992; Ghelen y cols., 2007), las yeguas PRE presentaron aldosteronemias casi 12 veces superiores. La diferencia en los resultados de ambas investigaciones podría ser debida a la metodología empleada en las determinaciones analíticas, aunque no se descartan factores como el momento de las venipunciones, la edad y el estado reproductivo de los animales.

Estudios previos realizados en caballos PSI (Guthrie y cols., 1980; Harris, 1993; McKeever y Malinowski, 1999), Standardbred (Gaini y Mongiorgi, 1975; McKeever y Malinowski, 1999; McKeever y cols., 2002) y otras razas equinas (Michaux y cols., 1987; Clarke y cols., 1988) también mostraron valores medios inferiores a los obtenidos en la yegua PRE. Cabe destacar que estos animales estaban en periodo de entrenamiento y realizaban ejercicio a diario. Se conoce que la pérdida de sodio a través del sudor durante el ejercicio, induce de forma compensatoria un aumento de la secreción de aldosterona para restablecer la natremia (Clarke y cols., 1988; Masri y cols., 1990; Schott y cols., 1997; McKeever y cols., 1991; 1992; 2002; McKeever y Gordon, 2004; Muñoz y cols., 2007). En estas situaciones, la síntesis de aldosterona promueve la reabsorción de sodio en el túbulo renal, favoreciendo al mismo tiempo la conservación de sodio a nivel de colon (McKeever, 2002; McKeever y Gordon, 2004).

Asimismo, dos investigaciones recientes, una llevada a cabo en caballos de resistencia en reposo (Bataller, 2006), y la otra, en potros menores de un año (Rovira, 2007) también mostraron aldosteronemias inferiores a las de la presente investigación. Es importante considerar que en ambos estudios se utilizaron los mismos anticuerpos policlonales que en esta Tesis Doctoral, por lo que no podríamos considerar en principio, que las diferencias fueran debidas a la técnica analítica, sino a la influencia de otros factores como el estado fisiológico, entrenamiento y edad de los animales.

Como puede apreciarse, las yeguas tuvieron concentraciones circulantes de aldosterona superiores a las de potros y caballos adultos sanos con un estado hidroelectrolítico correcto. Se ha descrito que los mecanismos implicados en la producción de aldosterona son la concentración de renina, la ACTH, la reducción de la

natremia, incremento de la calemia y la acidosis (McKeever y cols., 1991; Cunningham, 2003; Muñoz y cols., 2006). Así, un aumento de tan sólo 0,3 mmol/l de potasio es suficiente para inducir una liberación de aldosterona independientemente de la intervención de la cascada renina-angiotensina-aldosterona, a través de la conversión del colesterol en pregnenolona o bien en un paso posterior de la cadena de biosíntesis (Sealey y Laragh, 1990). Estos resultados serían consistentes con los elevados requerimientos homeostáticos del caballo de deporte, en el que la alteración electrolítica más común es la variación de la calemia (Masri y cols., 1990; Muñoz y cols., 2006).

En opinión de los autores, la reninemia aún en ausencia de variaciones de las concentraciones de sodio, potasio y angiotensina II, en principio podría ser el factor responsable del mantenimiento de la aldosteronemia en la yegua PRE durante el periodo reproductivo. Sin embargo, las bajas correlaciones encontradas entre dichos parámetros, no podrían justificar hechos fisiológicos como el mantenimiento de los niveles de aldosterona adrenal a expensas de las concentraciones de renina y angiotensina II únicamente, como previamente mostraron Guthrie y cols. (1980) en caballos PSI. Podría sugerirse la implicación de otros factores en la síntesis de aldosterona, como la ACTH, ya que durante la gestación la síntesis de ACTH se incrementa notablemente por parte de la placenta y la hipófisis (Cunningham, 2003).

#### **5.1.2.4.- CORTISOL**

El nivel medio de cortisol para la totalidad de las yeguas estuvo comprendido dentro de los límites de referencia para équidos adultos sanos (Hoffsis y cols., 1970; James y cols., 1970; van der Kolk, 1998; Smith, 2002). Otros investigadores han establecido valores medios inferiores en caballos adultos de diversas razas como Standardbred, PSI, cruzados y ponis (Bottoms y cols., 1972; Larsson y cols., 1979; Guthrie y cols., 1980; Irvine y Alexander, 1987; 1994; Cudd y cols., 1995; Alexander e Irvine, 1998; Van der Kolk y cols., 2001; Chandler y Dixon, 2002).

Por el contrario, se han mostrado niveles medios de cortisol en reposo superiores en caballos entrenados de diversas razas como PSI (Guthrie y cols., 1980; Ralston y cols., 1988; Lindner y cols., 1990; Van Heerden y cols., 1990; McKenna y cols., 1993), Standardbred (Snow y Rose, 1981; Ralston y cols., 1988; Lassourd y cols., 1996), caballos trotones (Persson y cols., 1980; Hagedorn y Schulz, 1997), Árabes y Angloárabes (Martinez y cols., 2001), en caballos de salto (McKenna y cols., 1993) y potros PRE (Rovira, 2007). Este incremento de los valores de cortisol en reposo, indicaría una mayor respuesta adrenal debido a las demandas energéticas del ejercicio y la

excitación. La elevación de la secreción adrenal, generalmente es proporcional al aumento de los niveles de cortisol plasmático (James y cols., 1970; Lassourd y cols., 1996; Gordon y cols., 2007).

#### **5.1.2.5.-PROGESTERONA Y SULFATO DE ESTRONA**

Debido a la implicación de las hormonas esteroideas en los procesos fisiológicos reproductivos que acontecen a lo largo de la gestación, la evolución de las concentraciones de progesterona y sulfato de estrona y la relación existente con el resto de parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales analizados, serán discutidos en el apartado correspondiente a las variaciones hormonales derivadas de la gestación en la yegua PRE.

#### **5.2.- EVOLUCIÓN DE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES DURANTE LA GESTACIÓN EN LA YEGUA PRE**

Durante la gestación, el organismo de la hembra presenta una serie de cambios, de naturaleza anatómica y funcional, cuyo objetivo es la consecución del medio más idóneo para el desarrollo del feto. El feto y la placenta durante este periodo, inducen alteraciones endocrinas, con modificaciones en el metabolismo proteico, lipídico, glucídico y mineral, sugiriendo simultáneamente cambios cardiovasculares derivados del crecimiento uterino y de su contenido. Estos cambios adaptativos se hacen necesarios para acomodar el aumento del contenido uterino, incrementar la biodisponibilidad de nutrientes al feto y eliminar los productos de desecho fetales a través de las arterias uterinas y ováricas que perfunden el espacio intervilloso placentario (Howell-Fulton, 1973; Mattison y cols., 1991; Sibai y Frangieh, 1995; Hafez y cols., 2007). Asimismo, conforman los requerimientos circulatorios renales maternos necesarios durante el ciclo reproductivo.

En opinión de los autores, resulta importante para el veterinario clínico de équidos conocer la dirección y magnitud de estos cambios, al proporcionar una ayuda práctica para el diagnóstico de patologías que podrían cursar con hallazgos hematológicos y bioquímicos similares. Además, se podrían establecer rangos de referencia más estrechos para yeguas PRE en diferentes momentos del ciclo reproductivo.

En este apartado se analizarán los cambios laboratoriales acontecidos a lo largo del ciclo reproductivo, estableciéndose para ello, el intervalo de duración total de la gestación en meses y en tres periodos de tiempo de duración similar: periodo I (desde el



inicio de la gestación hasta el día 115), periodo II (desde el día 116 hasta el día 230) y periodo III (desde el día 231 hasta el momento del parto).

## **5.2.1.-PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DURANTE LA GESTACIÓN**

### **5.2.1.1.-VALOR HEMATÓCRITO**

En la yegua PRE, un resultado interesante fue la evolución del valor hematócrito a lo largo de la gestación, con un aumento en el segundo y tercer periodo con respecto al primer periodo, ambos significativos estadísticamente. En yeguas PRE de Estirpe Cartujana (Satué, 2004), Brasileñas y Bretonas (Orozco y cols., 2007) se observó la misma tendencia en el segundo periodo, aunque con un descenso significativo en el tercer periodo. Sin embargo, en un estudio previo en yeguas PRE no se evidenciaron variaciones durante esta gestación (Plaschka y cols., 1996), si bien, el número de animales considerados en la investigación fue de 7 yeguas. Además, los valores medios obtenidos en este último estudio fueron superiores a los de la presente investigación.

Diversos trabajos realizados en yeguas PSI (Hansen y Tood, 1951; Mason y Kwok, 1977) y Árabes (Berlink y cols., 2000) mostraron un incremento significativo del valor hematócrito desde el primer al tercer periodo de gestación, con valores medios superiores a los de las yeguas de la presente investigación. En principio, las variaciones entre estos resultados podrían ser debidas a diferencias de tipo racial, como quedó discutido en el apartado anterior. Se conoce que la raza ejerce un efecto considerable sobre el eritrograma. Los équidos pertenecientes a la variedad racial de sangre caliente (*hot-blooded*), como PSI y Árabe entre otros, presentan valores hematológicos superiores a los de las razas de sangre fría (*cold-blooded*) (McLeod y Ponder, 1946; Knill y cols., 1969; Jain, 1993; Parry y Brobst, 1997; Satué, 2004).

En base a los resultados obtenidos, no se dispone de ninguna explicación razonable para justificar el incremento del valor hematócrito durante el segundo y tercer periodo de gestación. No obstante, podrían proponerse dos posibles hipótesis, la intensidad de los requerimientos metabólicos del feto durante el segundo y tercer periodo de gestación y la influencia de la lactación durante el primer periodo.

Los datos derivados de la presente investigación podrían sugerir que, a partir del segundo periodo de preñez, las demandas energéticas del feto aumentarían y con ellas, las necesidades de oxígeno, originando una elevación del valor hematócrito. No obstante, la contribución materna al crecimiento y la mayor tasa de crecimiento fetal (60%) se alcanza durante los últimos tres meses de gestación (Allen, 2001). De hecho, la utilización

de oxígeno y glucosa por parte del útero grávido, feto y tejidos uteroplacentarios se duplica o triplica durante este periodo (Fowden y cols., 2000; Père, 2003; Berlink y cols., 2000). Se han descrito mecanismos similares en mujeres (Souza y cols., 2002) y conejas (Kim, 2002).

Otra de las posibles causas que podría explicar el incremento del valor hematocrito durante este periodo se relaciona con la vida media del eritrocito. En comparación con estados de ingravidez, las hembras gestantes presentan una reducción de la vida media de los eritrocitos circulantes (Lurie, 1993). En estas situaciones, se podría establecer un estado de “hematopoyesis de emergencia”, promovido por el incremento de la concentración de eritropoyetina y del número de eritrocitos.

En comparación con el segundo y tercer periodo, el primer periodo de gestación mostró valores inferiores de valor hematocrito en yeguas PRE, como previamente se había mostrado en yeguas de Estirpe Cartujana, Brasileñas y Bretonas (Satué, 2004; Orozco y cols., 2007). Este hecho podría ser debido al estado de lactación y por tanto, a la influencia del estrés a lo largo de este periodo. Según Hansen y cols. (1950, b) y Harvey y cols. (1994), durante la lactación, en la yegua, se produce una reducción en el número circulante de hematíes, de la concentración de hemoglobina y del valor hematocrito. Estos autores reseñaron que, aunque no se trata de una anemia propiamente dicha, en hembras con un periodo de lactación superior a los 4 meses de duración, se evidencia un descenso del valor hematocrito. Esta tendencia también se ha descrito en animales de otras especies, como vacuno de leche (Steinhardt y cols., 1994), ovino (Ramos y cols., 1992) y caprino (Mbassa y Poulsen, 1991; Montoro, 1995) y se asocia con la mayor utilización de las reservas en las hembras para la producción de leche (García-Baratute y cols., 2002; Harvey y cols., 2005).

En el tercer periodo de gestación, en yeguas, Trum (1951), Satué (2004), Orozco y cols. (2007) y en ovejas, Jain (1993), mostraron una reducción significativa del valor hematocrito. Este último autor describió un incremento en el volumen plasmático al final de la gestación, cifrado en un 23%, circunstancia que desencadenaría un efecto de hemodilución, con la consiguiente caída de los parámetros hematológicos. Se presenta, por tanto, la llamada anemia gravídica. El porcentaje de hemodilución derivado de la preñez es variable, habiéndose descrito porcentajes del 25% en mujeres (Botella y Clavero, 1974; Wintrobe, 1974; West, 1990; Souza y cols., 2002) e incluso valores de hasta un 150% en mujeres gestantes a término (Hyttén y Paintin, 1963; Pirani y cols., 1973). Esta respuesta fisiológica al estado de gestación ha sido mostrada en numerosas especies animales, como elefantes hembra (Ratnassooriya y cols., 1993), perras (Allard y cols., 1989), ovejas de diferentes razas (Del Valle y cols., 1983; Ramos y cols., 1992;

González y cols., 1994; García-Baratute y cols., 2002), cabras (Fortagne y Schafer, 1989; Mbassa y Poulsen, 1991; Azab y Andel Maksoud, 1999; Viana y cols., 2003), cerdas (Zvorc y cols., 2006), conejas (Kim, 2002) y primates (Suzuki y cols., 1996; Harewood y cols., 2000).

Este estado de hipervolemia gravídica se ha relacionado con la retención de agua y sodio a nivel renal, debido a la actuación del SRAA, estimulado bajo la acción de los estrógenos. Este proceso está asociado a un estado de anemia ferropénica latente hacia el término de la gestación, a pesar del aumento de la concentración de eritropoyetina, posiblemente derivado de la secreción de prolactina placentaria (Hytten y Leitch, 1971; McMullin y cols., 2003). En mujeres gestantes, se ha observado que el descenso en los parámetros hemáticos inducido por hemodilución, se acompaña de un incremento en el volumen sanguíneo total y de una reducción en la viscosidad sanguínea, asegurando ambos la perfusión y oxigenación correctas al feto (McMullin y cols., 2003). En la yegua PRE las bajas correlaciones encontradas entre las concentraciones de sodio y sulfato de estrona en principio no podrían explicar hechos como la existencia de retención de sodio asociada a la activación del SRAA bajo influencia estrogénica.

En opinión de los autores, la yegua PRE no muestra signos de anemia gravídica durante el último periodo de la gestación, como previamente se había mostrado en yeguas (Satué, 2004; Orozco y cols., 2007), vacas y cabras (Pereira y cols., 1987; Montoro, 1995). No se conoce si el estado anémico en yeguas podría quedar enmascarado por la importancia cuantitativa del reservorio esplénico y su respuesta rápida a la liberación de los factores humorales implicados en el control del rendimiento cardíaco. El efecto de la alimentación tampoco debe omitirse, ya que se sabe que una alimentación deficitaria en équidos genera anemia (Clarke y Ganjam, 1988; Gatta y cols., 1992; Greppi y cols., 1996), así como las modificaciones en el volumen plasmático y en la masa eritrocitaria total.

Una cuestión interesante a resaltar es la dinámica paralela creciente que mostraron las concentraciones de renina y el valor hematócrito a lo largo de la gestación en la yegua PRE, aunque el análisis estadístico mostró correlaciones muy bajas entre ambos parámetros. Aunque existen indicios de la actuación del SRAA en la regulación de la eritropoyesis, los mecanismos básicos aún no han sido definidos (Mrug y cols., 2004). Diversos estudios relacionaron directamente la actividad del SRAA y la eritrocitosis que se produce en una gran variedad de condiciones clinicopatológicas (Stephen y Lindop, 1998; Coulthard y Lamb, 2002). De forma experimental, se ha mostrado un incremento de la eritropoyesis tras la administración de renina o angiotensina II (Fried y cols., 1982; Mrug y cols., 1997; Freudenthaler y cols., 1999; Gossmann y cols., 2001). Aunque

determinados estudios in vitro (Mrug y cols., 1997; Rodgers y cols., 2000) e in vivo (Kato y cols., 2005) sugieren el papel directo de la angiotensina II sobre la estimulación de la proliferación de progenitores eritroides de la médula ósea (BFU-E) vía receptores AT1, otras investigaciones muestran efectos inhibitorios (Brunet de la Grange y cols., 2002). En base a estas consideraciones previas, no podría precisarse el grado de contribución de la renina a la dinámica eritrocitaria durante la gestación en la yegua PRE.

#### **5.2.1.2.-CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS PLASMÁTICAS TOTALES**

La gestación en la yegua PRE no condicionó modificaciones apreciables en los niveles de proteínas plasmáticas totales. Estos resultados corroboraron los presentados previamente en équidos de diversas razas por Plaschka y cols. (1996), Satué (2004), Harvey y cols. (2005). Sin embargo, se han descrito estados de hipoproteinemia (Jain, 1993; Harvey y cols., 1994) e hiperproteinemia (Herak y cols., 1994; Milinkovic-Tur y cols., 2005). Estos últimos investigadores mostraron la relación existente entre el grado de hiperproteinemia y el incremento de la secreción de glucocorticoides y hormonas tiroideas a lo largo de la gestación. En un estudio realizado en yeguas Brasileñas y Bretonas se alcanzaron valores medios superiores a los de las yeguas de la presente investigación (Orozco y cols., 2007). En principio, las diferencias entre los resultados podrían ser debidas a la técnica empleada en el análisis, ya que en este último trabajo se utilizó la refractometría.

Sobre la ausencia de modificaciones en la proteinemia durante la gestación en las yeguas PRE habría que considerar la posible existencia de variaciones en las diversas fracciones de las proteínas, que no se habrían manifestado en la concentración total. Se ha citado que la hipoproteinemia de la gestante, además de estar inducida por hemodilución, se asocia a los requerimientos energéticos incrementados que conlleva la gestación (Dunlap y Dickson, 1955; Botero y cols., 2000). Quizás la inexistencia de cambios en las proteínas plasmáticas sea un reflejo del estricto control alimentario en las yeguas analizadas. Posiblemente la suplementación extra que las yeguas recibieron al final de la gestación habría prevenido la aparición de una cierta tendencia hacia la hipoproteinemia.

Al igual que la gestación, la lactación representa un estímulo importante para la movilización de las reservas proteicas del animal, debido al incremento en la tasa metabólica. A pesar de ello, los escasos trabajos realizados en la especie equina ponen en manifiesto que la concentración de proteínas plasmáticas durante el periodo de lactación es discretamente superior a la que acontece durante la gestación. Este hecho

probablemente derive de la normalización del volumen plasmático en el estado de lactación (Holtan y cols., 1975; Felbinger, 1987; Harvey y cols., 1994; Allen y cols., 1998).

### **5.2.1.3.-CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ELECTROLITOS**

#### **5.2.1.3.1.-SODIO**

La concentración plasmática de sodio no mostró modificaciones significativas asociadas a la gestación en la yegua PRE, hecho que previamente había sido descrito en yeguas de la misma raza (Plaschka y cols., 1996) y en la mujer (Weir y cols., 1971). La ausencia de variaciones en el estudio de Plaschka y cols. (1996) podría ser debida al limitado número de animales incluidos en el estudio. La ausencia de variaciones en la natremia indicaría el estado hidroelectrolítico correcto en las yeguas PRE durante el periodo de toma de muestras.

Otros estudios en yeguas PSI, Quarter Horse, Saddlebred, Standardbred y Morgan (Harvey y cols., 2005), en la mujer (Oliver y cols., 1981; Kathleen y cols., 2002) y en animales de experimentación (Atherton y cols., 1982) revelaron una disminución de los niveles de sodio plasmático durante el mismo periodo reproductivo. Concretamente, estas pérdidas de sodio se cifraron en 5-7 mEq/l en la mujer, y se han relacionado con la producción de leche, sugiriendo al mismo tiempo, un mayor uso por parte del feto. En roedores, se ha descrito que la hiponatremia se produce aún en presencia de retención de sodio (ELKarib y Green, 1981; Mills y cols., 1983; Morrissey y cols., 2001). Este hecho posiblemente podría derivar del efecto antidiurético de la prolactina a nivel renal.

A pesar de estas afirmaciones, diversas investigaciones realizadas en la mujer, la vaca, la oveja y la perra, confirmaron que la gestación se acompaña de una ganancia global de sales, que se distribuye entre el compartimento materno y fetoplacentario. Este estado de hipernatremia inducida por la gestación, podría estar relacionado con el incremento de la secreción de aldosterona al final de este periodo (Dutton y cols., 1979; Rowlands y cols., 1975). Como consecuencia de esta retención salina, se produce un incremento progresivo del volumen plasmático. Además, en dichos casos, el aumento de sodio plasmático podría provocar deshidratación osmótica con ganancia absoluta de sodio en el interior del eritrocito (Ozegbe, 2001; Kumral y cols., 2002). Al mismo tiempo, la tasa de filtración glomerular aumenta, y con ella, la excreción renal de sodio (Weir y cols., 1971; Valloton, 1987; Jeyabalan y Conrad, 2007). En esta situación, el efecto natriurético inducido por la progesterona podría compensarse fisiológicamente debido a la acción conjunta de la aldosterona, estrógenos y renina a nivel de los túbulos renales, favoreciendo la reabsorción de sodio (Davis y cols., 1952; Weir y cols., 1971). No se ha

podido precisar si en la yegua se producen mecanismos de actuación hormonales similares. En opinión de los autores, se necesitarían estudios de investigación paralelos para evaluar la excreción de sodio, la posible existencia de natriuresis y los mecanismos hormonales compensatorios del restablecimiento de la natremia durante la gestación.

#### **5.2.1.3.2.-POTASIO**

Los niveles de potasio tampoco manifestaron modificaciones a lo largo de la gestación en la yegua PRE. Estos resultados coincidieron con los presentados por Weir y cols. (1971) y Bentley-Lewis y cols. (2005) en la mujer, y Plaschka y cols. (1996) en yeguas de la misma raza, en el mismo periodo reproductivo, si bien, en la mujer, Lucius y cols. (1970) detectaron un amplio rango de variación para este parámetro al final de la preñez.

Por el contrario, Harvey y cols. (2005) en yeguas PSI, Quarter Horse, Saddlebred, Standardbred y Morgan describieron una reducción de la concentración de potasio plasmático durante las primeras fases de la gestación, coincidiendo con el periodo en el que las yeguas estaban amamantando a los potros de la gestación anterior. Estos autores asociaron dichas modificaciones a la pérdida de potasio para la formación de la leche (Peaker y cols., 1979; Rook y cols., 1997). De hecho, la concentración de potasio decrece en las secreciones mamarias tras el parto de 30 mmol/l a 10 mmol/l, coincidiendo con el periodo de destete (Ullrey y cols., 1966; Peaker y cols., 1979; Rook y cols., 1997). Sin embargo, este no es un suceso común en todas las especies domésticas. Así, aunque Rook y cols. (1999) no evidenciaron variaciones de este electrolito durante la lactación, cabe destacar que el análisis bioquímico se llevó a cabo a los 8 días del parto. En cerdas gestantes tampoco se manifestaron estas modificaciones (Reese y cols., 1984).

Asimismo, en la mujer, la rata y la oveja se ha descrito una disminución de la concentración de potasio durante la gestación (Lindheimer y cols., 1981; LaBorde y cols., 1999). Este estado de hipocalcemia inducida por la gestación podría estar relacionado por un lado, con el aumento de aldosterona (Dutton y cols., 1979; Rowlands y cols., 1975) y por otro lado, con hiperinsulinemia (Martin y Hoffman, 1983). La insulina secretada durante la gestación favorece el ingreso de potasio en el interior de las células hepáticas y musculares, cooperando a la conservación celular de los niveles de este electrolito. Tampoco debe obviarse el efecto de la alimentación, ya que la depleción de potasio con la dieta genera hipocalcemia (Tomala y cols., 1994).

A pesar de estas afirmaciones, se han descrito estados de hipercalcemia asociados a la gestación. En estas situaciones, la ganancia de potasio se ha cifrado en 300-350 mEq/l y se almacena en los tejidos mamarios, útero, feto y placenta. Este exceso de potasio se ha atribuido al efecto antagonista de la progesterona sobre la aldosterona (Metcalfe y cols., 1988).

#### **5.2.1.3.3.-CLORO**

La concentración de cloro tampoco mostró modificaciones significativas asociadas a la gestación en la yegua PRE, hecho que previamente había sido descrito en animales de la misma raza (Plaschka y cols., 1996) y en la mujer (MacDonald y Good, 1972; Johnson y cols., 1996). Tal vez la ausencia de variaciones en el estudio de Plaschka y cols. (1996) podría ser debido al limitado número de animales incluidos en la investigación, como se ha descrito previamente, aunque no se descartan hechos fisiológicos, como la expansión del volumen plasmático y la dinámica endocrinológica presente en la hembra durante este periodo.

En la mujer, MacDonald y Good (1971) mostraron un incremento de la concentración de cloro a partir de los dos primeros meses de gestación. Estos niveles se mantuvieron elevados hasta los 8 meses, declinando posteriormente. La dinámica endocrinológica de la relaxina y la HCG presentes en la hembra durante este periodo podrían haber condicionado dichas modificaciones (MacDonald y Good, 1972; Johnson y cols. 1996). En yeguas PSI, Quarter Horse, Saddlebred, Standardbred y Morgan, el pico de este electrolito ocurrió antes del parto (Harvey y cols., 2005). Estos últimos investigadores no encontraron una explicación razonable a este hecho.

### **5.2.2.-PARÁMETROS HORMONALES DURANTE LA GESTACIÓN**

#### **5.2.2.1.-RENINA**

La gestación originó modificaciones importantes en la concentración de renina en sangre periférica en las yeguas PRE, apreciándose una elevación significativa en el segundo y tercer periodo. Además, el estudio estadístico reveló que la concentración de renina es la variable que se ve modificada de forma más intensa durante la gestación en este grupo de animales.

En la mujer, diversos estudios de investigación han mostrado que el pico hormonal de la renina se produce durante el primer (Skinner y cols., 1972; Tapia y cols., 1972) y segundo periodo de la gestación (Gorden y cols., 1967; Alhenc-Gelas y cols., 1986;

August y cols., 1990; Skinner, 1993; Sullivan y Matrin, 1994; Langer y cols., 1998; Bentley-Lewis y cols., 2005). Así, mientras que en la mujer la elevación de los niveles de renina condiciona una *hiperreninemia* durante los dos primeros tercios (Lindheimer y Katz, 1992; Skinner, 1993), en la yegua PRE ocurre en el tercer periodo de gestación. No podemos precisar con exactitud si estas diferencias pudieran ser interespecíficas o debidas al momento estacional de las venipunciones.

Esta elevación de los niveles de renina al final de la gestación en la yegua, nos lleva a especular sobre la falta de control de la angiotensina II sobre la secreción de renina. En la mujer, la elevación significativa de la angiotensina II ejerce un efecto feedback negativo sobre la secreción de renina, inhibiéndose la síntesis de renina (Alhenc-Gelas y cols., 1986; Broughton Pipkin y cols., 1987; Laragh y Sealey, 1992). En la presente investigación, las concentraciones de angiotensina II no se modificaron, mientras que los niveles de renina seguían incrementándose al final de la gestación, sugiriendo la existencia de un cierto grado de disociación entre ambos parámetros durante el tercer periodo.

Otro de los mecanismos que se atribuyen al incremento de la síntesis de renina durante la gestación es la pérdida de sodio, debida al incremento de la filtración glomerular y a la secreción de progesterona, agente antagonista de la aldosterona e inductor de natriuresis (Brown y cols., 1964; Ledoux y cols., 1975; Oparil y cols., 1975; Weir y cols., 1975; Weinberger y cols., 1976; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Sealey y cols., 1994; Oelkers, 2002). En la yegua no hemos podido verificar la existencia de natriuresis compatible con la dinámica de la progesterona y el grado de filtración glomerular durante la gestación. Sería interesante en un futuro poder valorar la interrelación entre dichos factores y analizar la contribución de estos mismos, a las modificaciones en la síntesis de renina en la yegua durante este periodo.

Se ha postulado que el pico de renina durante la gestación podría estar mediado por el efecto de los estrógenos sobre la producción de angiotensinógeno a nivel hepático (Sealey, 1991; Sealey y cols., 1994; Brosnihan y cols., 1999; Oelkers, 2002). Cabe destacar, que los coeficientes de correlación entre la renina y sulfato de estrona fueron muy bajos en las yeguas de la presente investigación, indicando por tanto, la escasa relación entre ellos, como previamente se había descrito en la mujer (Weir y cols., 1975; Weinberger y cols., 1977). Además, las concentraciones medias de ambos parámetros evolucionaron de forma distinta a lo largo de la gestación. Así, mientras que en los dos primeros periodos de gestación se observó un incremento simultáneo de las concentraciones, en el último periodo, el incremento de los niveles de renina se acompañó de un declive de los niveles de sulfato de estrona, sugiriendo un cierto grado



de disociación entre ambos. En opinión de los autores, el incremento de la concentración de renina sin modificaciones paralelas de los niveles de estrógenos, podría sugerir la existencia de otros factores implicados en el control de la síntesis de renina por parte del riñón durante la gestación.

### **5.2.2.2.-ANGIOTENSINA II**

Los niveles de angiotensina II se mantuvieron con valores medios estrechos sin fluctuaciones significativas a lo largo de la gestación. En ponis gestantes durante el segundo periodo de gestación, Forhead y cols. (2000) y en momentos cercanos al parto, Broughton Pipkin y cols. (1982) obtuvieron niveles medios inferiores a los de la presente investigación. Las diferencias entre los resultados de dichas investigaciones en principio, podrían deberse a la metodología empleada para la determinación hormonal.

La mayoría de estudios de investigación realizados en la mujer y diversas especies animales mostraron que la gestación se acompaña de un incremento sustancial de angiotensina II circulante (Gant y cols., 1973; Skinner y cols., 1975; Weir y cols., 1975; Symonds, 1981; Carr y Gant, 1983; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Alwan y cols., 2005). De hecho, en la mujer y la oveja se conoce que la gestación duplica (Fleischman y cols., 1975; Dandrea y cols., 2002) o incluso triplica (Symonds, 1976; van Dijk y cols., 2001) la concentración de angiotensina II, en comparación con estados de ingravidez.

Concretamente, en la mujer, esta elevación de los niveles de angiotensina II ocurre al inicio de la gestación, alcanza el valor máximo a los 7 meses y prosigue hasta el final de la preñez (Godard y cols., 1976; Hanssens y cols., 1991) y se ha relacionado con el aumento de la síntesis de renina (Weir y cols., 1971; Godard y cols., 1976). Los niveles crecientes de renina en la yegua PRE deberían haber condicionado un incremento de las concentraciones de angiotensina II, sin embargo este péptido no se modificó a lo largo de la gestación. Este hecho podría ser indicativo por una parte, de que la renina no es un factor limitante de la síntesis de angiotensina II y por otro lado, que en la preñez no se ponen de manifiesto los efectos presores de la angiotensina II en este grupo de animales, como previamente manifestaron Gant y cols. (1976) y Talledo y cols. (1968) en la mujer. Sobre los efectos protectores de la gestación a los niveles de angiotensina II son importantes las investigaciones de Beilin y cols. (1983) en la mujer y Forhead y cols. (1997) en la oveja, entre otros. Mientras que Beilin y cols. (1983) revelaron un declive de la concentración de angiotensina II a lo largo de la preñez y Forhead y cols. (1997) describieron la existencia de un cierto antagonismo de la actividad de la angiotensina II fetal sobre los niveles maternos, vía bloqueo de los receptores AT1 o por inhibición de la

síntesis del péptido. Además, en la oveja, se ha verificado que la infusión experimental de angiotensina II durante la gestación, no resulta en un incremento de los valores medios de esta hormona a nivel sistémico, debido al aumento del aclaramiento metabólico (Naden y cols., 1985). Utilizando este tipo de experimentos en esta misma especie y en la mujer, Siddiqi y cols. (1986) mostraron una disminución de la sensibilidad de la angiotensina II a nivel de los órganos diana, de forma secundaria al decrecimiento en el número y afinidad de los receptores específicos para la angiotensina II.

### **5.2.2.3.-ALDOSTERONA**

Durante la gestación, los sistemas cardiovascular y renal materno experimentan profundas modificaciones, cuyo objetivo persigue satisfacer las demandas energéticas crecientes por parte del feto y la unidad fetoplacentaria. Algunos de estos cambios pueden ser la causa, y otros la consecuencia del nuevo ambiente hormonal y de las variaciones circulatorias resultantes de la gestación, con el nuevo papel endocrinológico que representa la placenta.

De forma general, la secreción adrenal de aldosterona se incrementa notablemente durante la gestación, como se ha documentado en la mujer (Jones y cols., 1959; Van de Wiele y cols., 1960; Watanabe y cols., 1963; Sims y cols., 1964; Weir y cols., 1971; Ehrlich y Lindheimer, 1972; Ehrlich y cols., 1976; Smeaton y cols., 1977; Oliver y cols., 1981; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Gallery y Brown, 1987; McCance y cols., 1990; Sullivan y Matrin, 1994; Bentley-Lewis y cols., 2005), en la perra (Robb y cols., 1970) y en determinados animales de experimentación (Schneider y Mulrow, 1973; Wintour y cols., 1978; Demey-Ponsart y cols., 1982; Abou-Samra y cols., 1984; Garland y cols., 1987; Brochu y cols., 1996; 1998). De hecho, respecto a los estados de ingravidez (100-200 ng/l) (Hyttén y Lind, 1973) en la mujer, se han descrito niveles hormonales 2 a 3 veces superiores (200-700 ng/l) durante la preñez. En la yegua PRE, los valores medios superaron casi 12 veces el rango fisiológico de referencia para équidos adultos sanos (McKeever y cols., 1992). Aunque los niveles medios hormonales fueron superiores al intervalo fisiológico de referencia descrito en ambas especies, en ningún caso se mostraron síntomas compatibles con hiperaldosteronemia (Garland y cols., 1987; Alhenc-Gelas y cols., 1986; Brochu y cols., 1997; Bentley-Lewis y cols., 2005).

En la yegua PRE, la concentración media de aldosterona partió de un valor basal de 628,79 pg/ml en el primer mes de gestación. Tras un leve descenso en el segundo mes, se incrementó significativa y progresivamente hasta alcanzar en el quinto mes el valor máximo (795,19 pg/ml). En el sexto mes volvió a disminuir de nuevo, para en el

séptimo mes lograr el segundo pico hormonal (658, 59 pg/ml). Este tipo de respuesta hormonal de la aldosterona a la gestación es similar a la que acontece en la mujer (Godard y cols., 1976; Weinberger y cols., 1977; Wilson y cols., 1980) y podrían sugerir una mejor conservación renal de sodio y agua para favorecer la expansión de la barrera fetoplacentaria y asegurar el aporte correcto de nutrientes al feto, el mantenimiento de la tensión de oxígeno ideal al feto, y la homeostasis y presión sanguínea adecuadas entre la madre y el feto (Demey-Ponsart y cols., 1982; Abou-Samra y cols., 1984; Jensen y cols., 2002).

Mientras que en la mujer y la rata los valores máximos se produjeron en el último periodo de gestación, en la yegua este incremento se sucedió en el segundo periodo, seguido de un descenso significativo en el tercer periodo. En la mujer, Weinberger y cols. (1976) y Bentley-Lewis y cols. (2005) mostraron durante el primer periodo de gestación un aumento paralelo de los niveles de renina y aldosterona. Sin embargo, otras investigaciones, pusieron de manifiesto niveles superiores de aldosterona a los de renina a lo largo de la gestación, concluyendo un cierto grado de disociación entre ambos parámetros en el segundo (Katz y cols., 1973; Wu y cols., 1991; 1992; Brown y cols., 1992) y tercer periodo (Wu y cols., 1992; Brown y cols., 1992). En la yegua PRE, este estado de disociación se hace evidente a partir del sexto mes de gestación, aunque de forma distinta al que acontece en la mujer. De esta forma, los niveles de aldosterona disminuyen en el último periodo, mientras que los de renina siguen incrementándose. En la mujer, este efecto se ha atribuido a la acción directa de la progesterona sobre la zona glomerulosa de la glándula suprarrenal (Alhenc-Gelas y cols., 1986).

Este exceso de aldosterona durante la gestación en la mujer se ha asociado por un lado, con el incremento de sensibilidad de la glándula adrenal a la renina (Weir y cols., 1975; Godard y cols., 1976; Weinberger y cols., 1977; Wilson y cols., 1980; Alhenc-Gelas y cols., 1986) y por otro lado, con el aumento de la secreción de angiotensina II a nivel sistémico (Alhenc-Gelas y cols., 1986). Asimismo, la liberación de angiotensina II se ha relacionado con la síntesis de lactógeno placentario en esta última especie. Se conoce que el lactógeno placentario es un importante regulador de la homeostasis metabólica, induciendo un aumento de receptores para la angiotensina II durante el segundo periodo de la gestación (Battaglia, 1997).

En la mujer, se ha especulado que el incremento drástico de la concentración de aldosterona durante la gestación, podría ser un factor decisivo para prevenir la natriuresis masiva que ocurriría debido al incremento de la filtración glomerular (Hyttén y Lind, 1973). En estos casos, la aldosterona se opone al efecto natriurético de la progesterona a nivel del túbulo distal, evitando la pérdida de sodio y permitiendo la progresiva acumulación de

sodio en el sector fetoplacentario y fluidos extracelulares maternos (Alhenc-Gelas y cols., 1986), si bien, el antagonismo de ambos mineralocorticoides no parece ser un hecho constante durante la gestación (Smeaton y cols., 1977; Bay y Ferris, 1979). De hecho, MacGillivray (1961) reveló concentraciones de sodio similares en mujeres gestantes y no gestantes. En la yegua se desconoce la existencia de natriuresis, las repercusiones de ésta sobre la natremia y si dichas modificaciones son de suficiente magnitud como para inducir la síntesis de aldosterona. Estos mismos acontecimientos hormonales podrían haber condicionado el incremento de la secreción adrenal de aldosterona en la yegua PRE, aunque las bajas correlaciones encontradas entre ambos parámetros no lograrían explicar hechos fisiológicos como la retención de sodio sobre las bases del antagonismo de la aldosterona y la tendencia a la natriuresis durante la gestación. Se necesitarían nuevos estudios de investigación para analizar la relación existente entre ellos.

Se conoce que la ACTH es uno de los estímulos más potentes para la liberación de aldosterona. La ACTH actúa a través de un receptor específico situado en la membrana de la célula glomerulosa, estimulando la enzima adenilatociclasa, y transformando el adenosin trifosfato (ATP) en adenosín monofosfato cíclico (AMPc). El AMPc, tras una serie de fosforilaciones proteicas, genera la entrada de calcio a través de la membrana plasmática y promueve la liberación de aldosterona (Kojima y cols., 1985, a; Brown y cols., 1995; Cunningham, 2003). En la mujer, Bentley-Lewis y cols. (2005) mostraron que durante la gestación, la placenta y la hipófisis sintetizan ACTH. A pesar de que en la yegua se desconoce esta producción dual de ACTH si se extrapolan los resultados de medicina humana, se podría sugerir que la ACTH podría haber condicionado el incremento de la actividad adrenal y por tanto, la síntesis de la aldosterona en la yegua PRE.

En opinión de los autores, el incremento de actividad del SRAA es una condición fisiológica de la gestación en la yegua PRE. El hecho de que las concentraciones de renina y aldosterona se eleven considerablemente a lo largo del periodo reproductivo, sin modificaciones evidentes en la liberación de angiotensina II, podría sugerir un mayor grado de sensibilización de la glándula adrenal a la angiotensina II durante la gestación en la yegua PRE.

#### **5.2.2.4.- CORTISOL**

Los valores medios de cortisol en las yeguas gestantes PRE fueron similares a los presentados en yeguas Quarter Horse (Harvey y cols., 1994), Standardbred (Hoffsis y cols., 1970; Flisinska-Bojanowska y cols., 1991, b; Gill y cols., 1994), PSI (Tsumagari y

cols., 1991; Harvey y cols., 1994) y Árabes (Gill y cols., 1985) durante el mismo periodo reproductivo.

En la yegua PRE, los niveles medios de cortisol a lo largo de la primera mitad de la gestación, fueron superiores a los de la segunda mitad. También se han descrito modificaciones hormonales similares en yeguas de otras razas: Standardbred (Flisinska-Bojanowska y cols., 1991, b; Gill y cols., 1994), PSI (Tsumagari y cols., 1991) y Árabes (Gill y cols., 1985). Sin embargo, aunque los valores medios de cortisol de la presente investigación fueron muy cercanos a los obtenidos en yeguas Standardbred, Hoffsis y cols. (1970) no evidenciaron modificaciones importantes a lo largo de la misma. Cabe destacar que el número de receptores uterinos para los glucocorticoides no se modifica durante la gestación, como mostraron Chavatte-Palmer y cols. (2000). Otros investigadores, por el contrario, presentaron niveles superiores en la concentración de cortisol al final de la gestación (Lumsden y cols., 1980; Hoffman y cols., 2003).

Durante los primeros meses de la gestación en la yegua, coexisten dos estados fisiológicos importantes. Por un lado, el crecimiento fetal y por otro, el periodo de lactación del potro de la gestación anterior. La producción láctea de la yegua es muy variable, oscilando entre 10 y 30 kg diarios según el peso del animal (Doreau y Boulot, 1989). En relación al peso vivo, las producciones varían entre 2 y 3,5 kg por cada 100 kg de peso. Estas cifras suponen una producción por lactación hasta el momento del destete, de 1800 a 3000 kg de leche para una yegua de 500 kg.

A lo largo de este periodo, el metabolismo de los carbohidratos permanece incrementado, debido a las necesidades de glucosa para la producción de leche (Evans, 1971). La demanda de cortisol está estrechamente relacionada con el grado de actividad metabólica (Brabant y cols., 1989; Fulkerson y Tang, 1979; Boden, 1996). Además, los niveles hormonales de prolactina, hormona del crecimiento y cortisol, permanecen elevados durante este periodo, siendo los responsables del mantenimiento de la producción láctea (Neuschaefer y cols., 1991).

Por otro lado, los niveles de cortisol en la yegua PRE fueron superiores a los presentados en yeguas PSI (Nathanielsz y cols., 1975) y en yeguas de diversas razas (Cudd y cols., 1995) en el intervalo comprendido entre los 227 y 310 días de la gestación. La diferencia entre ambos estudios pudiera ser debida a la técnica analítica utilizada en el procesamiento de las muestras. Además, estos mismos investigadores determinaron que los niveles de cortisol en yeguas vacías eran significativamente superiores a los de yeguas gestantes. Previamente, Gill y cols. (1985) en yeguas Árabes, habían estimado

que los niveles medios de cortisol en hembras vacías eran un 20% superiores a los de yeguas preñadas.

Los cambios acontecidos durante la segunda mitad de la gestación, podrían ser consecuencia por una parte, de la intensidad del metabolismo ante un feto en crecimiento, y particularmente, debido a las influencias hormonales que regulan la reproducción en la yegua durante este periodo.

La gestación altera significativamente el metabolismo de los substratos en la madre debido a las demandas fetales. En este sentido, la mayoría de estudios se han realizado en mujeres, ovejas y ratas y se han aplicado a otras especies (Takata y cols., 1994; Bell y cols., 1999). En la yegua, las investigaciones sobre la evolución de la glucemia durante la gestación, concluyeron que el feto equino tiene una necesidad de glucosa similar al feto humano (Evans, 1971; Fowden y cols., 1984; Hoffman y cols., 2003).

Los mecanismos reguladores de la glucosa durante la gestación han sido descritos en muchas especies, como mujer, oveja, vaca y en animales de laboratorio (Petterson y cols., 1993; Bell, 1995; Boden, 1996; Pére y cols., 2000). Concretamente en la mujer, se acepta, que en la segunda mitad del embarazo se produce hiperinsulinemia posprandial más marcada por resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina en la gestación se debe a los efectos antiinsulínicos, principalmente del cortisol, somatotropina coriónica y hormona del crecimiento placentaria (Yen, 1991), y a la modificación funcional de las células pancreáticas tipo  $\beta$ , como ya se había mostrado en la yegua (Fowden y cols., 1984). Los efectos antiinsulínicos de estas hormonas inhiben la entrada de glucosa a las células, la síntesis de glucógeno, la glucólisis y la lipogénesis y activan la glucogenolisis, la proteólisis en el músculo y la gluconeogénesis a partir de los aminoácidos. Estas acciones tienen como objetivo aumentar la concentración plasmática de glucosa, preservándola para su consumo por órganos como el cerebro materno y mejorar la transferencia placentaria de glucosa para atender a las demandas fetales (Leturque y cols., 1987; Petterson y cols., 1993; Pére y cols., 2000; Fowden y cols., 2005).

Por otro lado, los altos niveles de progesterona durante la segunda mitad de la gestación conducen a un estado de resistencia glucocorticoidea debido al efecto antiglucocorticoideo de dicha hormona. Se ha revelado que los niveles de progesterona están inversamente relacionados con la concentración de cortisol al final de la gestación (Tsumagari y cols., 1991). Estos acontecimientos podrían explicarse por la competencia de ambos esteroides por los lugares de unión a la proteína transportadora de cortisol

(Rosenthal y cols., 1969; Batra y Grundsell, 1978; Junkerman y cols., 1982), hecho fisiológico que no se ha podido confirmar estadísticamente en la yegua PRE.

#### **5.2.2.5.-PROGESTERONA Y SULFATO DE ESTRONA**

Como se ha citado en el apartado correspondiente a revisión bibliográfica, las hormonas esteroideas son importantes reguladores de la fisiología reproductiva en la yegua. Estas hormonas, estrógenos y progesterona, intervienen promoviendo cambios en las estructuras del aparato reproductor en la yegua durante el ciclo estral y la gestación (Ginther, 1992). Tanto la cópula como la fertilización requieren la presencia de estrógenos, hormona que permite la lubricación y flacidez adecuadas del tracto reproductivo para inducir el comportamiento reproductivo. Esta hormona durante la gestación, incrementa el flujo uterino y placentario, facilitando el intercambio de nutrientes y productos de deshecho entre la madre y el feto. Por otro lado, la progesterona desempeña un papel preponderante en el establecimiento de la preñez y la implantación y supervivencia del embrión a nivel uterino, favoreciendo del mismo modo, el desarrollo de la glándula mamaria (Clark y Marcaverich, 1988; Gerald y Albretch, 1995; Spencer y cols., 2004).

##### **5.2.2.5.1.-PROGESTERONA**

El nivel medio de progesterona en la yegua PRE se incrementó significativamente hasta alcanzar su valor máximo en el segundo y tercer mes de gestación. A partir del cuarto mes, se observó una disminución significativa, correspondiendo al quinto y sexto mes los valores mínimos, manteniéndose estables hasta el final de la gestación.

En yeguas de diversas razas, se han obtenido valores medios inferiores a los obtenidos en la presente investigación durante los primeros 50 días de la gestación (Alegría y cols., 2001). Además, los resultados de estos últimos autores fueron similares a los presentados previamente en yeguas PRE (Plaschka y cols., 1993) y PSI (Davis Morel, 2003) durante la primera quincena. Asimismo, otras investigaciones realizadas en yeguas (Terblanche y Maree, 1981) y camellas (Saleh y cols., 2000; Ayoub y cols., 2003; Deen y cols., 2007) mostraron concentraciones medias inferiores durante los dos primeros meses de gestación. Sin embargo, en yeguas criollas, aunque Pérez y cols. (2003) revelaron valores medios superiores a los citados por los autores previos, también fueron inferiores a los de las yeguas de la presente investigación. Dichos niveles medios de progesterona plasmática durante los primeros 30 días de la preñez en la yegua PRE, al igual que en el resto de razas equinas analizadas (Short, 1959; Holtan y cols., 1975; Seren y cols., 1981;

Pashen y Allen, 1984; Naber y cols., 1999; Ousey, 2004) reflejan la correcta funcionalidad ovárica y del cuerpo lúteo primario de gestación (Squires y cols., 1974; Holtan y cols., 1975; Seren y cols., 1981; Plaschka y cols., 1993; Daels, 2006).

A lo largo del tercer mes de gestación, las yeguas PRE de la presente investigación igualmente presentaron valores medios superiores a los descritos en yeguas de la misma raza (Plaschka y cols., 1993), PSI (Davis Morel, 2003), yeguas criollas (Pérez y cols., 2003) y camellas (Skidmore y cols., 1996). La producción de progesterona en el intervalo comprendido entre los 30 y 50 días indica la actividad secretoria del cuerpo lúteo primario y de los cuerpos lúteos secundarios y accesorios, que siguen produciendo progesterona hasta el día 110 de la gestación (Terblanche y Maree, 1981; Alegría y cols., 2001). La progesterona juega un papel importante en el mantenimiento de la gestación, reduciendo la contractibilidad uterina por hiperpolarización miometrial debido a la disminución del número de uniones gap y receptores contráctiles del miometrio (Ammons y cols., 1988; Thorburn, 1993; Silver, 1994).

A partir del quinto mes, la concentración de progesterona en la yegua PRE también superó los niveles medios descritos en yeguas de la misma raza, PSI y otras razas equinas (Plaschka y cols., 1993; Davies Morel, 2003; Terblanche y Maree, 1981), manteniéndose estos valores medios hasta aproximadamente el séptimo mes de gestación, si bien, a partir de este momento, los valores medios fueron inferiores a los de los cuatro primeros meses de gestación. En yeguas Árabes (Naber y cols., 1999) y PSI (Tsumagari y cols., 1991) se obtuvieron valores medios similares a los de las yeguas PRE, tras los primeros 120 días de gestación. No obstante, diversos estudios revelaron niveles indetectables ( $< 1$  ng/ml) a partir de este momento (Short, 1959; Holtan y cols., 1975; Seren y cols., 1981; Pashen y Allen, 1984; Naber y cols., 1999; Ousey, 2004). La bibliografía cita que durante el tercer periodo de la gestación, la producción de progesterona ovárica decae. De esta forma, el mantenimiento de la gestación se produce debido a la acción de los progestágenos, metabolitos de la pregnenolona y en menor medida por la progesterona, sintetizados fundamentalmente a nivel placentario (Thorburn, 1993; Silver, 1994; Chavatte y cols., 1997; Daels, 2006).

A pesar de estas observaciones previas, se ha mostrado una dinámica creciente de la progesterona al final de la gestación en ponies y yeguas gestantes de razas ligeras (Holtan y cols., 1991), yeguas Lippizanas (Cebulj-Kadunc y cols., 2003) y camellas (Zhao y Chen, 1995; Deen y cols., 2007). Las diferencias entre los resultados de dichos estudios de investigación, en principio, podrían radicar en la metodología empleada en el análisis hormonal, a pesar de que en la actualidad, las técnicas para la determinación de



progesterona circulante garantizan gran precisión, exactitud y elevadas correlaciones entre ellas (Nagy y cols., 1998).

#### **5.2.2.5.2.-SULFATO DE ESTRONA**

La concentración de sulfato de estrona también varió a lo largo de la gestación en la yegua. Así, en comparación con el primer y segundo mes, a partir del tercer mes se incrementó significativamente hasta alcanzar en el sexto mes el nivel máximo. A partir del séptimo mes, disminuyó de forma progresiva, manteniéndose sin variaciones significativas hasta el final de la gestación.

Según la bibliografía consultada, el sulfato de estrona es el estrógeno predominante en el saco embrionario y líquido uterino entre los días 18 y 20 de la gestación. Cabe destacar que estas modificaciones no se manifiestan en el plasma materno, indicando que estos cambios se producen únicamente en el ambiente uterino. Además, estos niveles hormonales son similares a los de diestro en yeguas no grávidas. Tal vez éste podría ser el origen de la baja concentración hormonal de estrógenos a nivel periférico encontrada en la yegua PRE durante el primer mes de gestación (Zavy y cols., 1984).

Por otro lado, en la secreción de sulfato de estrona participa el cuerpo lúteo primario de gestación, que sintetiza estrona en respuesta a la estimulación por parte de la gonadotropina coriónica equina (eCG). Se han detectado niveles hormonales de estrona 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 cuerpos lúteos (Daels y cols., 1991). Aunque la contribución ovárica es importante para la síntesis de sulfato de estrona, 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). Con posterioridad, estas concentraciones se incrementan significativamente (Nett y cols., 1975; Zavy y cols., 1984; Plaschka y cols., 1993; Tsumagari y cols., 1991; Ferraz y cols., 2001; Illera y cols., 2001).

Los niveles circulantes de sulfato de estrona en la yegua PRE fueron superiores a los obtenidos por Kindahl y cols. (1982), Tsumagari y cols. (1991) y ligeramente inferiores a los presentados por Henderson y cols. (1998; 2000; 2004) y Lima y cols. (2001). Estos investigadores identificaron que los valores medios comenzaban a aumentar el día 70-75, hasta alcanzar una concentración máxima a los 100 días de gestación. Además, el pico hormonal se alcanzó más tardíamente en las yeguas de la presente investigación. Este incremento significativo de la concentración de sulfato de estrona a partir del tercer mes de gestación, 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 DHA y el precursor de los estrógenos a nivel placentario (Raeside y cols., 1979; Allen, 2005).

Cox (1975) mostró niveles plasmáticos superiores a 100 ng/ml en ponis, similares a los obtenidos en las yeguas de la presente investigación entre los 120 y 240 días de gestación, aunque posteriormente declinaron hasta el momento del parto. Este investigador describió la relación existente entre el incremento progresivo de la concentración de estrona y la funcionalidad de la unidad fetoplacentaria.

Como resumen de este apartado y en base a los resultados obtenidos, se puede afirmar que la preñez altera significativamente los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en la yegua PRE. La gestación se caracterizó por el aumento del valor hematócrito, de las concentraciones de renina y aldosterona, disminución de la concentración de cortisol, y fluctuaciones de dirección variable de las concentraciones de progesterona y sulfato de estrona, sin modificaciones apreciables en la proteinemia, electrolitos y niveles de angiotensina II. Estas mismas modificaciones se mantuvieron durante el primer y segundo periodo de gestación, sin embargo, al final de la preñez, las diferencias significativas se hicieron más evidentes. Este dato llevó a pensar que las modificaciones derivadas de la gestación en la yegua se incrementaron al final de la gestación.

### **5.3.-INFLUENCIA DE LA EDAD SOBRE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS Y HORMONALES EN LA YEGUA PRE**

Se ha observado que los dueños tienen un interés especial en animales de edad avanzada, ya que muchos de ellos siguen realizando aún su actividad deportiva o reproductora de forma diaria. Por otro lado, existen numerosas patologías, como la osteoartritis, los problemas dentales y digestivos en general, las alteraciones endocrinas y cardiovasculares, que ocasionan graves pérdidas económicas y que, en algunos casos, conllevan al sacrificio humanitario del animal. Las patologías citadas se manifiestan con más intensidad y frecuencia en animales de edad avanzada. El diagnóstico hematológico, bioquímico y hormonal en estos casos, es importante, para establecer las repercusiones sistémicas de la patología, el pronóstico y la respuesta al tratamiento. Por ello, el clínico de équidos debe conocer las modificaciones laboratoriales que se asocian al envejecimiento del animal.

En este apartado, se valorará la dirección y la magnitud de dichos cambios tanto en el perfil hematológico, como bioquímico y hormonal de la yegua PRE, considerando

tres grupos de edad biológica o cronológica: de 4 a 9 años (grupo A), de 10 a 14 años (grupo B) y mayores de 15 años (grupo C).

### **5.3.1.-PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS**

#### **5.3.1.1.-VALOR HEMATÓCRITO**

El valor hematócrito no se modificó en relación a la edad en la yegua PRE. Sin embargo, la bibliografía cita una reducción del número de glóbulos rojos con la edad en caballos trotones Standardbred (Jain, 1986; Ralston y cols., 1988), Lippizanos (Cebulj-Kadunc y cols., 2002), yeguas PRE de Estirpe Cartujana (Satué, 2004) y caballos salvajes (Plotka y cols., 1988). Asimismo, McFarlane y cols. (1998) encontraron una tendencia decreciente de la eritrocitemia cuando compararon animales geriátricos con un grupo control joven.

Estos últimos autores, asociaron la disminución del número de eritrocitos con el declive de la capacidad regenerativa de la médula ósea, la presencia de enfermedades crónicas subclínicas y/o hiperadrenocorticismos dependiente de hipófisis, reflejando cambios derivados de la dinámica de maduración de los glóbulos rojos. A pesar de los resultados de los autores anteriores, Ralston y cols. (1988) mostraron valores superiores de valor hematócrito en caballos adultos, con respecto a animales más jóvenes.

#### **5.3.1.2.-CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS PLASMÁTICAS TOTALES**

Se ha citado que las proteínas plasmáticas totales permanecen relativamente estables durante toda la vida del animal, hasta alcanzar la senectud. En este momento, se produce un descenso significativo (Tumbleson y cols., 1972; Kaneko, 1997; Siciliano, 2002). En la yegua PRE de Estirpe Cartujana (Satué, 2004), por el contrario, se apreció un incremento significativo de las proteínas séricas totales con la edad, resultados que corroboraron los presentados previamente por McFarlane y cols. (1998), aunque en esta última investigación las modificaciones no alcanzaron la significación estadística. En las yeguas de la presente investigación no se han mostrado modificaciones asociadas a la edad, concluyendo que el envejecimiento no se asocia con hipoproteinemia, como se ha descrito en caballos geriátricos (Siciliano, 2002).

En primer lugar, hay que considerar que las yeguas analizadas en esta Tesis no tuvieron edades muy avanzadas, sólo hasta los 17 años, si bien algunos animales del grupo C seguían ejerciendo su función reproductora sin problemas evidentes, aunque se considera una edad avanzada para llevar a cabo una actividad reproductiva correcta. En

segundo lugar, el correcto manejo del efectivo equino de las yeguas estudiadas, con control nutricional, habría minimizado la influencia de la edad sobre la proteinemia (Paradis, 2002). Finalmente, se debe tener en cuenta que las yeguas permanecieron gran parte del día sueltas en las praderas, de modo que el ejercicio físico habría promovido un mejor estado corporal, restringiendo la acción del sedentarismo sobre el catabolismo proteico.

A pesar de estas aseveraciones, no se puede descartar que el envejecimiento haya afectado a las diversas fracciones proteicas, no determinadas en la presente investigación. En opinión de los autores, la cuantificación de la albuminemia, globulinemia y fibrinogenemia podría aportar datos importantes al conocimiento de la evolución de la proteinemia con la edad, ya que un porcentaje elevado de animales de edad media a avanzada suelen presentar patologías crónicas subclínicas, que se manifestarían con una tendencia hacia la hiperfibrinogenemia.

### **5.3.1.3.-CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE ELECTROLITOS**

Las deficiencias nutricionales de electrolitos no son frecuentes en el caballo. A pesar de ello, existe una gran variedad de procesos clínicos que podrían cursar con carencia de alguno de estos elementos. En este sentido, los datos sobre las concentraciones de electrolitos séricos podrían ser útiles para optimizar el diagnóstico de las disfunciones sanitarias y nutricionales, y también podrían cooperar en la búsqueda de los verdaderos requerimientos nutricionales en esta especie.

A pesar de ello, la bibliografía referente al estudio de las variaciones en los electrolitos asociados a la edad es muy escasa. En un trabajo de investigación realizado en équidos con edades comprendidas entre los 3 y 14 años, El Amrousi y Soliman (1965) no evidenciaron modificaciones en los niveles plasmáticos de sodio, potasio y cloro con el avance de la edad. No se dispone de información suficiente para justificar el origen de la disminución de sodio y cloro en las yeguas PRE adultas, ya que dichos animales de forma individualizada presentaron concentraciones de electrolitos plasmáticos dentro de los límites de referencia para équidos adultos sanos. De cualquier forma, podría ser que el envejecimiento fisiológico renal fuera el responsable de este proceso, aunque se necesitaría confirmación mediante urianálisis.

Aunque no se ha demostrado la existencia de variaciones en las concentraciones de potasio en la yegua PRE, en búfalos, Zaman y cols. (2004), ovejas, Sharma, y cols. (2005) y terneros, Todd y Thompson (1960) describieron una disminución de los niveles de este electrolito asociada a un incremento de la concentración de sodio con la edad. En

humanos, se conoce que la depleción de potasio es un problema común en individuos geriátricos y se produce como consecuencia del aumento de la excreción urinaria, debido fundamentalmente a la administración de diuréticos, o a la presencia de pielonefritis crónica, así como a la eliminación fecal en situaciones de diarreas crónicas y/o uso de laxantes (Sangiorgi y cols., 1979; Macías y Cameron, 1992).

### **5.3.2.-PARÁMETROS HORMONALES**

#### **5.3.2.1.-RENINA**

La concentración plasmática de renina no se modificó en relación a la edad en la yegua PRE. Estos resultados corroboraron los obtenidos previamente por Rovira (2007) en potros menores de un año de la misma raza. Sin embargo, Guthrie y cols. (1980) y McKeever y Malinowski (1999) en équidos y Guthrie y cols. (1976) en el hombre, mostraron una disminución de la actividad de la renina plasmática con la edad. Igualmente, otras investigaciones llevadas a cabo en animales y seres humanos (Corman y Michel, 1986; Jover y cols., 1993; Michel y cols., 1994; Jung y cols., 1995) confirmaron que las concentraciones plasmáticas de renina eran significativamente superiores en niños y animales jóvenes que en adultos (Hayduk y cols., 1973; Sassard y cols., 1975; Stark y cols., 1975; Weidman y cols., 1975; Hiner y cols., 1976; Andreson y cols., 1994). Según Stark y cols. (1975), la causa principal de la mayor actividad de la renina en niños es la influencia del sistema nervioso simpático, ya que los niveles de catecolaminas son más elevados en estos grupos de edad. Igualmente, Tsunoda y cols. (1986) revelaron que la edad induce una disminución en la actividad de la renina plasmática debido principalmente al declive de la renina activa con la edad.

Por el contrario, otras investigaciones han descrito valores inferiores de la actividad de la renina en niños con edades comprendidas entre 4 y 16 años (Goldfarb y cols., 1981; Fiselier y cols., 1984). Finalmente, otros estudios no han hallado variaciones derivadas de la edad en la concentración plasmática de renina (Harshfield y cols., 1993; Fukushige y cols., 1994).

#### **5.3.2.2.-ANGIOTENSINA II**

Según el análisis estadístico, se apreció una disminución significativa de la concentración de angiotensina II con la edad en la yegua PRE. En humana y animales de experimentación son numerosas las investigaciones que han analizado los cambios en los niveles de angiotensina II con la edad, si bien, se centran en personas y animales de

edad avanzada (Weidman et al., 1975; Andreson y cols., 1994; Tank y cols., 1994; Jung y cols., 1995; Thompson y cols., 2000). En roedores, Corman y cols. (1986) mostraron que el declive de angiotensina II con el avance de la edad podría ser debido a la disminución de la acción de la renina a nivel de la nefrona (Hayashi y cols., 1981), así como a alteraciones en el ácido ribonucleico de la renina renal (Corman y cols., 1986; Jung y cols., 1995), aunque no todos los autores están de acuerdo con estas hipótesis (Corman y cols., 1995).

Otros estudios asociaron la edad con un declive en la actividad del SRAA, provocando de forma compensatoria un incremento de la expresión de receptores para la angiotensina II y una mayor respuesta tisular a esta última (Siebers y cols., 1990; Duggan y cols., 1992; Tank y cols., 1994; Heymes y cols., 1998; Roesch y cols., 2000). De hecho, en niños, se han documentado concentraciones circulantes más elevadas de angiotensina II hasta los 10-13 años de edad en comparación con los adultos, con un descenso progresivo a partir de este momento (Broughton Pipkin y cols., 1981; Fiselier y cols., 1983). Por el contrario, en personas Baylis y cols. (1997) no evidenciaron modificaciones de este parámetro con la edad. No hemos podido precisar el origen del declive de este péptido en la yegua PRE, ya que las concentraciones de renina y angiotensina II no se modificaron en la misma magnitud. Tal vez, el declive de actividad del SRAA unido a los cambios en la actividad de los productos finales de la cascada enzimática podrían explicar dichas modificaciones. Se ha descrito que la disminución de actividad de la angiotensina II y aldosterona contribuyen notablemente al incremento de la incidencia de desequilibrios hidroelectrolíticos y patologías renales en individuos geriátricos (Thompson y cols., 2000).

### **5.3.2.3.-ALDOSTERONA**

En équidos, Guthrie y cols. (1980) y en humanos, Fukushige y cols. (1994) y Thompson y cols. (2000) no revelaron modificaciones de la aldosteronemia asociadas a la edad. Estas observaciones previas coinciden con los resultados de la presente investigación.

Vincent y cols. (1980) y Goldfarb y cols. (1981) mostraron que los valores plasmáticos de aldosterona eran notablemente superiores en niños que en adultos. De hecho, los resultados de Vincent y cols. (1980) confirmaron que la actividad del SRAA es unas 10 veces superior en recién nacidos, reduciéndose de forma rápida al año de edad y más paulatinamente hasta los 9 años, evolución que indicaría una maduración del sistema nervioso simpático, como reflejaron las correlaciones entre aldosterona y la

actividad de la hormona dopamina  $\beta$ -hidroxilasa. Los mecanismos implicados en la mayor producción de aldosterona en los individuos más jóvenes son la activación del SRAA y las variaciones en las concentraciones de ACTH, sodio y potasio. De todos ellos, en seres humanos, el principal factor parece ser la renina (Stark y cols., 1975; Vincent y cols., 1980).

En potros PRE menores de un año, Rovira (2007) manifestó que la inexistencia de diferencias significativas en las concentraciones de aldosterona podría indicar que las variaciones en los niveles plasmáticos de esta hormona se iniciaran posteriormente al año de edad. Estos datos llevarían a especular si la falta de cambios en la renina podría ser el principal factor condicionante del mantenimiento de la aldosteronemia en potros con la edad. Finalmente, en respuesta al ejercicio McKeever y Malinowski (1999) describieron en potros jóvenes niveles superiores de aldosterona a los de adultos, sugiriendo una respuesta hormonal alterada en estos últimos.

#### **5.3.2.4.-CORTISOL**

No se ha apreciado influencia de la edad de la yegua PRE sobre la cortisolemia durante la gestación, resultado que coincide con lo reseñado por Hoffsis y cols. (1970) en yeguas Standardbred y Domingo (2006) y Satué y cols. (2007) en yeguas PRE. La liberación de cortisol permite una tolerancia individual y una adaptación a los cambios homeostáticos. En potros tras el nacimiento, los valores de cortisol oscilan entre 70 y 80 ng/ml, incrementándose hasta 120 ng/ml a las 21 horas de vida y descendiendo hasta 60 ng/ml a la semana del nacimiento (Knottenbelt y cols., 2004). Rovira (2007) no encontró modificaciones asociadas a la edad en potros sanos de PRE desde el nacimiento al año de edad, aunque los datos fueron superiores a los valores considerados normales para équidos adultos (Kurosawa y cols., 1998; Nagata y cols., 1999).

Diversos trabajos de investigación mostraron un incremento de la secreción de cortisol en animales viejos, debido al deterioro de los mecanismos de retroalimentación con el avance de la edad (Sapolsky y cols., 1986; Everitt y Meites, 1989; Rothuizen y cols., 1993; Horohov y cols., 1999; Bergendahl y cols., 2000; Otte y cols., 2005). Por el contrario, otras investigaciones manifestaron una disminución de la secreción de cortisol con la edad asociada a estrés crónico (Harbuz y Lightman, 1992; Bhatnagar y cols., 1995; Nogueira y cols., 2002).

### **5.3.2.5.-PROGESTERONA Y SULFATO DE ESTRONA**

Generalmente, la edad y la fertilidad tienen una relación inversa. En la mujer, la menopausia se define como el cese permanente de la menstruación, y tiene correlaciones fisiológicas importantes con el declive de la secreción de estrógenos y progesterona debido a la pérdida de la función folicular (Mishell, 2001; Duckitt, 2003).

La disfunción ovulatoria se ha identificado como causa de subfertilidad en yeguas de más de 20 años de edad. En estos animales, a veces se puede constatar un intervalo interovulatorio más prolongado que en yeguas jóvenes, debido a la mayor duración de la fase folicular (Carnevale y cols., 1993). El alargamiento de la fase folicular podría indicar la inminencia de la senectud reproductiva en yeguas viejas (Carnevale y cols., 1994). En estas circunstancias, con el paso del tiempo, los ovarios responden con menor intensidad a la estimulación ejercida por las hormonas FSH y LH, segregadas por la hipófisis. En consecuencia, los ovarios secretan menos cantidades de estrógenos y progesterona, provocando la detención de la ovulación. A pesar de estas observaciones, la edad en las yeguas PRE de la presente investigación no condicionó modificaciones en las concentraciones hormonales de progesterona y sulfato de estrona.

En resumen, el avance de la edad en la yegua reproductora PRE se caracterizó por la reducción en las concentraciones de angiotensina II, sodio y cloro, sin modificaciones del valor hematócrito, de las concentraciones de potasio, renina, aldosterona, progesterona, sulfato de estrona y cortisol. Estas mismas modificaciones se mantuvieron a lo largo de todos los periodos de gestación analizados. Estos datos podrían indicar que tal vez las modificaciones derivadas de la edad se minimizaron con el estado de gestación o, expresado de otra forma, la preñez enmascaró los cambios hematológicos bioquímicos y hormonales promovidos por el envejecimiento.



## **6.-CONCLUSIONES**

**PRIMERA.**-Respecto a los parámetros hematológicos y bioquímicos analizados, la yegua PRE durante el periodo gestacional presenta un incremento del valor hematócrito, sin modificaciones en las concentraciones de proteínas plasmáticas totales, sodio, potasio y cloro. Por tanto, en la yegua PRE, la gestación afecta significativamente a la eritrocitemia y no muestra signos compatibles con anemia gravídica, como se ha descrito en otras especies animales.

**SEGUNDA.**-La gestación en la yegua PRE condicionó un incremento significativo de las concentraciones de renina y aldosterona, sin modificaciones de los niveles de angiotensina II, indicando por un lado, el incremento de actividad del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona durante este periodo y por otro lado, la posible acción protectora de la gestación sobre los efectos presores de la angiotensina II.

**TERCERA.**-En la yegua PRE, la gestación se caracterizó por una disminución de la concentración de cortisol y fluctuaciones de dirección variable de los niveles de progesterona y sulfato de estrona. Dichos parámetros manifiestan un comportamiento homogéneo en la yegua PRE, siendo sus datos medios similares a los de otras razas. Este hecho posiblemente pueda estar asociado a la interacción de determinados factores metabólicos y hormonales que acontecen durante la preñez en la yegua.

**CUARTA.**-En la yegua PRE, la existencia de valores significativamente crecientes de renina y aldosterona sin variaciones en las concentraciones de angiotensina II a lo largo de la gestación, podría indicar un mayor grado de sensibilización adrenal a la angiotensina II, o bien, una síntesis más intensa de aldosterona por una vía no dependiente de renina.

**QUINTA.**-La existencia de hiperreninemia e hiperaldosteronemia en la yegua PRE sin signos compatibles con patologías evidentes, indicaría que ambos procesos vienen determinados por la gestación.

**SEXTA.**-La inexistencia de relación entre las concentraciones de sulfato de estrona y de renina al final de la gestación, podría indicar que en la yegua PRE la producción de renina no se ve favorecida únicamente por la acción de los estrógenos, y que posiblemente existan otros mecanismos que estimulen su producción durante el periodo reproductivo.

**SÉPTIMA.**-La ausencia de relación entre las concentraciones de progesterona y aldosterona, y progesterona y cortisol indicaría que en la yegua PRE durante la gestación, no se evidencia un mecanismo de inhibición competitivo entre dichos esteroides. Por este motivo, los parámetros hormonales en la yegua PRE tienen un comportamiento único y diferente al de otras especies analizadas previamente.

**OCTAVA.**-En el colectivo de yeguas gestantes PRE la edad no fue un factor determinante en los siguientes parámetros: valor hematócrito, concentración de proteínas plasmáticas totales, potasio, renina, aldosterona, progesterona, sulfato de estrona y cortisol. El incremento de la edad en la yegua PRE indujo un descenso de las concentraciones de angiotensina II y electrolitos sodio y cloro, lo cual podría indicar que los cambios asociados a la edad quedaron enmascarados por el estado de gestación.

## **7.-BENEFICIOS DERIVADOS DE LA INVESTIGACIÓN**

Los beneficios que podrían derivarse de la presente investigación se han dividido en dos categorías: científicos y clínicos, con importantes implicaciones en Medicina Equina:

### **CIENTÍFICOS**

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

### **CLÍNICOS**

Un mejor conocimiento de los mecanismos de acción de la renina. es un requisito indispensable para el diagnóstico de patologías de origen diverso, como hipertensión, laminitis, fallo cardiaco y renal en el caballo (Harkema y cols., 1978; Baggot, 1995; Davis y cols., 2002; Gehlen y cols., 2003).

El fallo cardiaco en équidos se produce como consecuencia de patologías de origen valvular, arritmias, endocarditis, determinados defectos congénitos, miocarditis, pericarditis e hipertensión pulmonar secundaria. El mal pronóstico que presentan este tipo de procesos justifica la creación, el ensayo, y la utilización de nuevos fármacos (Davis y cols., 2002).

El uso de análogos inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina en patologías hipertensivas y fallos cardiacos ha revolucionado la cardiología humana y veterinaria (Tillman y Moore, 1989; Cohn, 1991; Muir y cols., 2001; Davis y cols., 2002; Gehlen y cols., 2003; Gardner y cols., 2004; Soler-Soler, 2006; Luciani y cols., 2007). Aunque la eficacia de este tipo de compuestos ha sido determinante en humanos y

perros, en el caballo su aplicación ha recibido poca atención hasta la actualidad. Hoy en día en procesos de fallo cardiaco congestivo, el enalapril (Muir y cols., 2001; Sleeper, 2003; Gardner y cols., 2004), el ramipril (Luciani y cols., 2007), quinapril (Gehlen y cols., 2003) y captopril (Erdös, 2004) se prescriben para el control de la hipertensión sistémica.

Uno de las utilidades más exitosas de los inhibidores de la ECA en équidos se observa en el tratamiento de la laminitis. La laminitis está asociada con hipertensión, taquicardia, activación del SRAA (alta concentración de aldosterona, incremento de la actividad de la renina), y vasoconstricción de los vasos digitales (Harkema y cols., 1978; Allen y cols., 1990). El uso de este tipo de compuestos en el tratamiento de la laminitis, alcanza una eficacia del 75% tras la administración vía endovenosa (Brown y Vaughn, 1998; Muir y cols., 2001). En dichos casos, la aplicación mejora el flujo sanguíneo pedal por aumento de la vascularización (Harkema y cols., 1978; Hinckley y cols., 1996).

El conocimiento de la funcionalidad del SRAA así como de los fármacos y vías de bloqueo ayudarán a prevenir y resolver gran cantidad de patologías que se producen en la actualidad en équidos, debido fundamentalmente a los efectos perjudiciales presores de la angiotensina II. Estos fármacos relajan la pared de los vasos sanguíneos, disminuyen la resistencia vascular periférica, aumentan la excreción urinaria de sodio y agua, reducen la secreción de aldosterona, el flujo sanguíneo simpático central, y por tanto la presión sanguínea y el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

## **8.-RESUMEN**

### **ACTUACIÓN DEL EJE RENINA ANGIOTENSINA ALDOSTERONA Y HORMONAS DE LA REPRODUCCIÓN EN YEGUAS PRE DURANTE LA GESTACIÓN**

Durante la gestación se producen ajustes de tipo metabólico y cardiovascular cuyo objetivo va encaminado a preservar la energía y disponer de la cantidad adecuada de nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo del feto equino. Por tanto, este periodo representa un estrés metabólico en la yegua, que podría manifestarse en las características hematológicas, bioquímicas y hormonales. Por este motivo, los objetivos planteados en la presente investigación fueron los siguientes: 1) Establecer valores hematológicos, bioquímicos y hormonales de referencia para la yegua PRE gestante; 2) Analizar el efecto de la gestación sobre el perfil hemático, bioquímico y hormonal de las yeguas y 3) Valorar las modificaciones hematológicas, bioquímicas y hormonales asociadas al envejecimiento de las madres.

Se ha estudiado un total de 31 yeguas reproductoras PRE a lo largo de la gestación, la cual fue dividida en tres periodos (I, II y III) de duración similar. Las yeguas fueron clasificadas en tres grupos de edad: A (entre 4 y 9 años, n=21), B (entre 10 y 14 años, n=7) y C (mayores de 15 años, n=3). Se obtuvieron muestras de sangre venosa a lo largo del periodo gestacional, por las mañanas, con una frecuencia mensual. De la extracción realizada a cada una de las yeguas, se separaron dos fracciones, almacenándose en cantidades similares en tubos con heparina-litio, y tubos de vidrio con activadores de la coagulación, para la extracción de plasma y suero, de forma respectiva. Previamente a la centrifugación de la sangre anticoagulada con heparina-litio, se procedió a la realización del microhematócrito. En plasma se analizaron las concentraciones de proteínas y electrolitos, sodio, potasio y cloro, empleando la espectrofotometría y el analizador con electrodos selectivos, respectivamente. Las concentraciones de renina, angiotensina, aldosterona, cortisol, sulfato de estrona y progesterona se analizaron en suero, empleando técnicas inmunoenzimáticas de competición.

A nivel hematológico y bioquímico, la gestación en la yegua PRE se caracterizó por un aumento del valor hematócrito, sin modificaciones de las concentraciones de proteínas plasmáticas y electrolitos, sodio, potasio y cloro. A nivel hormonal, la gestación presentó incremento de las concentraciones de renina y aldosterona, disminución de la concentración de cortisol, y fluctuaciones de dirección variable de las concentraciones de

progesterona y sulfato de estrona, sin modificaciones apreciables de los niveles de angiotensina II.

El avance de la edad en la yegua reproductora PRE se caracterizó por la reducción de las concentraciones de angiotensina II, sodio y cloro, sin modificaciones del valor hematócrito, de las concentraciones de potasio, renina, aldosterona, progesterona, sulfato de estrona y cortisol.

En conclusión, el estado fisiológico de la gestación modifica significativamente los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en la yegua PRE. La preñez se caracteriza por una marcada actividad del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona. Este hecho posiblemente pueda estar relacionado con la interacción de determinados factores metabólicos y hormonales que acontecen durante la preñez en la yegua. En la yegua PRE, la gestación podría enmascarar los efectos hematológicos, bioquímicos y hormonales promovidos por la edad.

**PALABRAS CLAVE.** Bioquímica. Edad. Gestación. Hematología. Hormonas. Reproducción. Sistema Renina Angiotensina Aldosterona. Yegua.

## **9.-SUMMARY**

### **ACTIVITY OF THE RENIN ANGIOTENSIN ALDOSTERONE SYSTEM AND HORMONES OF THE REPRODUCTION IN SPANISH PUREBRED BROODMARES DURING PREGNANCY**

During pregnancy, there are a variety of metabolic and cardiovascular changes in the mare in order to preserve energy and to supply appropriate amounts of nutrients for the growth and development of the fetus. As a consequence, pregnancy represents a metabolic stress for the pregnant mare, which might be reflected in the hematological, biochemical and hormonal characteristics. For this reason, the purposes of the present research were: 1) To establish hematological, biochemical and hormonal reference values for Spanish mares; 2) To analyze the effect of pregnancy on hematological, biochemical and reproductive hormone profile of the mares and 3) To assess hematological, biochemical and hormonal modifications associated with aging of the broodmares.

A total of 31 Spanish Purebred broodmares has been studied during pregnancy, which was divided into three periods (I, the II and III) of similar duration. The mares were also classified in three groups of age: A (between 5 and 9 years, n=21), B (between 10 and 14 years, n=7) and C (older than 15 years, n=3). Venous blood samples were obtained monthly during pregnancy, always in the morning. Samples were separated into two fractions, and stored in tubes with lithium heparin, and with activators of the coagulation, for plasma and serum, respectively. Before centrifugation, a small amount of blood with lithium heparin was used to measure microhematocrit. In plasma, concentrations of proteins and electrolytes (sodium, potassium and chloride) were analyzed using an espectrofotometer and an analyzer with selective electrodes, respectively. The serum concentrations of renin, angiotensin, aldosterone, cortisol, estrone, and progesterone were analyzed by competitive immunoassay.

Pregnancy in Spanish Purebred broodmares was characterized by an increase in microhematocrit, without significant modifications in the concentrations of plasma proteins and electrolytes. From a hormonal point of view, pregnancy caused an increase in the concentration of renin and aldosterone, a decrease in cortisol concentration, and variable fluctuations of the progesterone and estrone concentrations, without significant modifications in the levels of angiotensin II.

The increase of the age in the Spanish Purebred broodmare was characterized by a reduction of serum concentration of angiotensin II, sodium and chlorine, without

modifications of microhematocrit, and concentrations of potassium, renin, aldosterone, progesterone, estrone and cortisol.

In conclusion, the physiological state of the gestation significantly modifies the hematological, biochemical and hormonal parameters in the Spanish Purebred broodmare. Pregnancy is characterized by a marked activity of the Renin Angiotensin Aldosterone System. This fact possibly could be associated with the interaction of certain metabolic and hormonal factors that happen during pregnancy in the mare. Additionally, in the Spanish Purebred broodmare, gestation might mask the hematological, biochemical and hormonal effects promoted by age.

**KEY WORDS.** Age. Biochemistry. Hematology. Hormones. Mare. Pregnancy. Renin Angiotensin Aldosterone System. Reproduction.



## **10.-ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS**

### **10.1.-ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1.a.-</b> Características generales del colectivo animal estudiado (Ganadería Martínez Suay).....	69
<b>Tabla 1.b.-</b> Características generales del colectivo animal estudiado (Ganadería Tarazón) .....	69
<b>Tabla 1.c.-</b> Características generales del colectivo animal estudiado (Ganadería Ballester).....	70
<b>Tabla 1.d.-</b> Características generales del colectivo animal estudiado (Ganadería La Mariposa).....	70
<b>Tabla 2.-</b> Distribución en grupos de edad de las 31 yeguas PRE .....	71
<b>Tabla 3.a.-</b> Valores medios mensuales de la humedad relativa (%), de la temperatura ambiental (°C) y del % de horas de sol durante el periodo de estudio Abril-Diciembre, 2005 .....	72
<b>Tabla 3.b.-</b> Valores medios mensuales de la humedad relativa (%), de la temperatura ambiental (°C) y del % de horas de sol durante el periodo de estudio Enero-Mayo, 2006 .....	72
<b>Tabla 4.-</b> Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE .....	80
<b>Tabla 5.-</b> Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el primer mes de gestación.....	81
<b>Tabla 6.-</b> Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el segundo mes de gestación .....	81
<b>Tabla 7.-</b> Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el tercer mes de gestación.....	82
<b>Tabla 8.-</b> Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el cuarto mes de gestación.....	82
<b>Tabla 9.-</b> Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el quinto mes de gestación .....	83
<b>Tabla 10.-</b> Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el sexto mes de gestación .....	83
<b>Tabla 11.-</b> Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el séptimo mes de gestación .....	84

<b>Tabla 12.</b> -Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el octavo mes de gestación .....	84
<b>Tabla 13.</b> -Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el noveno mes de gestación .....	85
<b>Tabla 14.</b> -Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el décimo mes de gestación .....	85
<b>Tabla 15.</b> -Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el décimo primer mes de gestación .....	86
<b>Tabla 16.</b> -Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el periodo de gestación I.....	90
<b>Tabla 17.</b> -Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el periodo de gestación II.....	90
<b>Tabla 18.</b> -Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE durante el periodo de gestación III.....	91
<b>Tabla 19.</b> -Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE del grupo de edad A.....	94
<b>Tabla 20.</b> -Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE del grupo de edad B.....	95
<b>Tabla 21.</b> -Estadísticos descriptivos de los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE del grupo de edad C .....	95
<b>Tabla 22.</b> -Coeficientes de correlación entre los parámetros hematológicos, bioquímicos y hormonales en las 31 yeguas PRE .....	98

## **10.2.-ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> -Vías metabólicas para la síntesis de progesterona y progestágenos y sus conversiones enzimáticas .....	64
<b>Figura 2.</b> -Valores medios $\pm$ DS del valor hematócrito a lo largo de los 11 meses de gestación en las 31 yeguas PRE.....	87
<b>Figura 3.</b> -Valores medios $\pm$ DS de las concentraciones de cortisol a lo largo de los 11 meses de gestación en las 31 yeguas PRE .....	87

<b>Figura 4.</b> -Valores medios $\pm$ DS de las concentraciones de aldosterona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 31 yeguas PRE .....	88
<b>Figura 5.</b> -Valores medios $\pm$ DS de las concentraciones de renina a lo largo de los 11 meses de gestación en las 31 yeguas PRE .....	88
<b>Figura 6.</b> -Valores medios $\pm$ DS de las concentraciones de progesterona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 31 yeguas PRE .....	89
<b>Figura 7.</b> -Valores medios $\pm$ DS de las concentraciones de sulfato de estrona a lo largo de los 11 meses de gestación en las 31 yeguas PRE .....	89
<b>Figura 8.</b> -Diferencias estadísticamente significativas en el valor hematócrito entre los tres periodos de gestación en las 31 yeguas PRE .....	91
<b>Figura 9.</b> -Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de cortisol entre los tres periodos de gestación en las 31 yeguas PRE .....	92
<b>Figura 10.</b> -Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de aldosterona entre los tres periodos de gestación en las 31 yeguas PRE .....	92
<b>Figura 11.</b> -Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de renina entre los tres periodos de gestación en las 31 yeguas PRE .....	93
<b>Figura 12.</b> -Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de progesterona entre los tres periodos de gestación en las 31 yeguas PRE .....	93
<b>Figura 13.</b> -Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de sulfato de estrona entre los tres periodos de gestación en las 31 yeguas PRE .....	94
<b>Figura 14.</b> -Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de angiotensina II entre los tres grupos de edad en las 31 yeguas PRE .....	96
<b>Figura 15.</b> -Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de sodio en los tres grupos de edad en las 31 yeguas PRE .....	96
<b>Figura 16.</b> -Diferencias estadísticamente significativas en la concentración de cloro en los tres grupos de edad en las 31 yeguas PRE .....	97

## 11.-BIBLIOGRAFÍA

- Abou-Samra, A.B.; Pugeat, M.; Dechaud, H. Increased plasma concentration of N terminal beta lipotrophin and unbound cortisol during pregnancy. *Clin. Endocrinol.*, 20: 221-228, 1984.
- Agüera, E.I.; Rubio, M.D.; Agüera, S.; Escribano, B.; Castejón, F.M. Efecto de una prueba de ejercicio de intensidad creciente en parámetros bioquímicos sanguíneos en potros Pura Raza Española. *Arch. Zootecn.*, 34(162): 153-164, 1994.
- Aidietis, A.; Laucevicius, A.; Marinskis, G. Hypertension and cardiac arrhythmias. *Curr. Pharm. Des.*, 13(25): 2545-2555, 2007.
- Al Kadi, H.; Nasrat, H., Broughton Pipkin, F. A prospective, longitudinal study of the renin angiotensin system, prostacyclin and thromboxane in the first trimester of normal human pregnancy: association with birthweight. *Human Reprod.*, 20(11): 3157-3162, 2005.
- Alegría, G.; Leyva, V.; Franco, J. Niveles de progesterona sérica y fecal durante el ciclo estrual y la gestación temprana en yeguas. *Rev. Inv. Vet. Perú*, 12(1), <http://sisbib.unmsm.edu.pe>, 2001.
- Alemán, M.R.; Kuesis, B.; Schott, H.C.; Carlson, G.P. Renal tubular acidosis in horses (1980-1999). *J. Vet. Intern. Med.*, 15: 136-143, 2001.
- Alexander, S.L.; Irvine, C.H.G. The effect of social stress on adrenal axis activity in horses: the importance of monitoring corticosteroid-binding globulin capacity. *J. Endocrinol.*, 157: 425-432, 1998.
- Alhenc-Gelas, F.; Tache, A.; Saint-Andre, J.P., Milliez, J.; Sureau, C.; Corvol, P.; Menard, J. The renin-angiotensin system in pregnancy and parturition. En: *Year Book Medical Publishers, Inc., Chicago, I.L.*, pp. 25-33, 1986.
- Allard, R.L.; Carlos, A.D.; Faltin, E.C. Canine hematological changes during gestation and lactation. *Comp. Anim. Pract. Hematol. Reprod.*, 19(3): 3-6, 1989.
- Allen, A.; Myers, S.L.; Searcy, G.P.; Fretz, P.B. Hematology of equine fetuses with comparisons to their dams. *Vet. Clin. Pathol.*, 27(3): 93-100, 1998.
- Allen, B.V.; Powell, D.G. Effects of training and time of day of blood sampling on the variation of some common haematological parameters in the normal thoroughbred racehorses. En: *Equine Exercise Physiology*. Snow, D.H.; Persson, S.G.B.; Rose, R.J. (eds.). Cambridge, Granta Editions, pp. 328-335, 1983.
- Allen, D.; Moore, J.N.; Clark, E.S.; Prasse, K.W. Evaluation of equine starting forces and hemodynamics during early laminitis. *Am. J. Vet. Res.*, 51: 1930-1934, 1990.
- Allen, W.R. Factors influencing pregnant mare serum gonadotrophin production. *Nature*, 223: 64-66, 1969.
- Allen, W.R. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reproduction*, 121: 513-527, 2001.
- Allen, W.R. Maternal recognition and maintenance of pregnancy in the mare. *Anim. Reprod.*, 2(4): 209-223, 2005.
- Allen, W.R.; Moor, R.M. The origin of the equine endometrial cups. I. Production of PMSG by fetal trophoblast cells. *J. Reprod. Fertil.*, 29: 313-316, 1972.
- Allen, W.R.; Stewart, F. Equine chorionic gonadotropins. En: *Equine Reproduction*. McKinnon, A.O.; Voss, J.L. (eds.) Lea y Febiger, Philadelphia, pp. 81-96, 1992.
- Allen, W.R.; Wilsher, S.; Tiplady, C.; Butterfield, R.M. The influence of maternal size on pre and postnatal growth in the horse: III. Postnatal growth. *Reproduction*, 127: 67-77, 2004.
- Allolio, B.; Hoffmann, J.; Linton, E.A.; Winkelmann, W.; Kusche, M.; Schulte, H.M. Diurnal salivary cortisol patterns during pregnancy and after delivery: relationship to plasma corticotrophin-releasing-hormone. *Clin. Endocrinol.*, 33: 279-289, 1990.
- Alonso, A.J.; de Teresa, R.; García, M.; González, J.R.; Vallejo, M. The effects of age and reproductive status on serum and blood parameters in Merino Breed Sheep. *J. Vet. Med. A.*, 44: 223-231, 1997.
- Alwan, S.; Polifka, J.E.; Friedman, J.M. Angiotensin II receptor antagonist treatment during pregnancy. *Birth Defects. Res. A. Clin. Mol. Teratol.*, 73(2): 123-130, 2005.
- Ammons, S.F.; Threlfall, W.R.; Kline, R.C. Equine body temperature and progesterone fluctuations during estrus and near parturition. *Theriogenology*, 31(5): 1007-1019, 1988.
- Andersson, B.; Augustinsson, O.; Bademo, E.; Junkergard, J.; Kvarn, C.; Nyman, G.; Wiberg, M. Systemic and centrally mediated angiotensin II effects in the horse. *Acta Physiol. Scand.* 129: 143-149, 1987.
- Andreson, S.; Rennke, H.G.; Zatz, R. Glomerular adaptations with normal aging and with long-term converting enzyme inhibition in the rat. *Am. J. Physiol. Renal Fluid Electrolyte Physiol.*, 267: 35-43, 1994.
- Arakawa, K.; Nakatani, M.; Nakamura, M. Studies on human angiotensin. *Nature*, 214: 278-279, 1967.

- Archer, R.K.; Jeffcott, L.B. Comparative clinical haematology. 1<sup>a</sup> ed. Archer, R.K.; Jeffcott, L.B. (eds). Oxford, Blackwell Scientific, pp. 161-185, 1977.
- Armitage, J.A.; Lakasing, L.; Taylor, D.D.; Balachandran, A.A.; Jensen, R.I.; Dekou, V.; Ashton, N.; Nyengaard, J.R.; Poston, L. Developmental programming of aortic and renal structure in offspring of rats fed fat-rich diets in pregnancy. *J. Physiol.*, 565(1): 171-184, 2005.
- Art, T.; Desmecht, D.; Amory, H.; Delogne, O.; Buchet, M.; Leroy, P.; Lekeux, P. A field study of post-exercise values of blood biochemical constituents in jumping horses: relationships with score, individual and event. *J. Vet. Med. A.*, 37: 231-239, 1990.
- Atarashi, K.; Mulrow, P.J.; Franco-Sáenz, R. Effect of atrial peptides on aldosterone production. *J. Clin. Invest.*, 76: 1807-1811, 1985.
- Atherton, J.C.; Bullock, D.; Pirie, S.C. The effect of pseudopregnancy on glomerular filtration rate and salt and water reabsorption in the rat. *J. Physiol.*, 324: 11-20, 1982.
- Auger, K.; Beauséjour, A.; Brochu, M.; St-Louis, J. Increased Na<sup>+</sup> intake during gestation in rats is associated with enhanced vascular reactivity and alterations of K<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> function. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 287: 1848-1856, 2004.
- August, P.; Lenz, T.; Ales, K.L.; Druzin, M.L.; Edersheim, T.G.; Hutson, J.M.; Müller, F.B.; Laragh, J.H.; Sealy, J.E. Longitudinal study of the renin angiotensin aldosterone system in hypertensive women: deviations related to the development of superimposed preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 163: 1612-1621, 1990.
- August, P.; Mueller, F.; Sealey, J.E.; Edersheim, T.G. Role of renin angiotensin system in blood pressure regulation in pregnancy. *Lancet*, 345: 896-897, 1995.
- Ayoub, M.A.; El-Khouly, A.A.; Mohamed, T.M. Some haematological and biochemical parameters and steroid levels in the one humped camel during different physiological conditions. *Emirates J. Agricultural Sci.*, 15(1): 44-55, 2003.
- Azab, M.E.; Abdel Maksoud, H.A. Changes in some haematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female Baladi goats. *Small Ruminant Res.*, 34(1): 77-85, 1999.
- Baggot, J.D. The pharmacologic basis of cardiac drug selection for use in horses. *Equine Vet. J. Suppl.*, 19: 97-100, 1995.
- Bailit, J.L.; Doty, E.; Todia, W. Repeated hematocrit measurements in low risk pregnant women. *J. Reprod. Med.*, 52(7): 619-622, 2007.
- Baker, C.B.; Adams, M.H.; McDowell, K.J. Lack of expression of alpha or omega interferons by the horse conceptus. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 44: 439-443, 1991.
- Bakhle, Y.S.; Reynard, A.M.; Vane, J.R. Metabolism of the angiotensins in isolated perfused tissues. *Nature*, 222: 956, 1969.
- Ball, B.A.; Gravance, C.G.; Wessel, M.T.; Sabeur, K. Activity of angiotensin converting enzyme (ACE) in reproductive tissues of the stallion and effects of angiotensin II on sperm motility. *Theriogenology*, 59(3-4): 901-914, 2003.
- Bamberg, E.; Choi, H.S.; Möstle, E.; Wurm, W.; Lorin, D.; Arbeiter, K. Enzymatic determination of unconjugated oestrogens in faeces for pregnancy diagnostic in mares. *Equine Vet. J.*, 16: 537-539, 1984.
- Barber, M.O.; Barber, E. El sistema renina angiotensina y el riñon en la fisiopatología de la hipertensión arterial esencial. *Rev. Cubana Invest. Biomed.*, 22(3): 192-198, 2003.
- Bass, J.K.; Faix, R.G. Gestational therapy with an angiotensin II receptor antagonist and transient failure in a premature infant. *Am. J. Perinatol.*, 23(5): 313-317, 2006.
- Bataller, A. Influencia de la aldosterona en el equilibrio hidroelectrolítico del caballo de raid. Trabajo de investigación tutelado. Universidad Cardenal Herrera-CEU, Moncada, Valencia, España, 2006.
- Batra, S.; Grundsell, H. Studies on certain aspects of progesterone and cortisol dynamics before, during and after labour. *Clin. Endocrinol.*, 8: 403-409, 1978.
- Battaglia, F.C. Placental Function and Fetal Nutrition. Workshop Series Vol. 39, Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997.
- Bay, W.; Ferris, T. Factors controlling plasma renin and aldosterone during pregnancy. *Hypertension*, 1(4): 410-415, 1979.
- Bayard, F.; Ances, I.G.; Tapper, A.H.; Weldon, V.V.; Kowarski, A.; Migeon, C.J. Transplacental passage and fetal secretion of aldosterone. *J. Clin. Invest.*, 49: 1389-1393, 1970.
- Baylis, C. Glomerular filtration and volume regulation in gravid model animal. *Baillieres Clin. Obstet. Gynecol.*, 8: 235-264, 1994.
- Baylis, C.; Engels, K.; Hymel, A.; Navar, L.G. Plasma renin activity and metabolic clearance rate of angiotensin II in the unstressed aging rat. *Mech. Ageing Dev.*, 97: 163-171, 1997.
- Baylis, C.; Munger, K. Persistence of maternal plasma volume expansion in midterm pregnant rats maintained on a zero sodium intake: evidence that early gestational volume expansion does not require sodium retention. *Clin. Exp. Hypertens.*, 9: 237-247, 1990.
- Bazer, F.W.; Thatcher, W.W. Theory of maternal recognition of pregnancy in swine based on oestrogen controlled endocrine versus exocrine secretion of prostaglandin F<sub>2α</sub> by the uterine endometrium. *Prostaglandins*, 14: 397-401, 1977.

- Beauséjour, A.; Auger, K.; St-Louis, J. Brochu, M. High sodium intake prevents pregnancy induced decrease of blood pressure in the rat. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 285: 375-383, 2003.
- Bédard, S.; Sicotte, B.; St-Louis, J.; Brochu, M. Modulation of body fluids and angiotensin II receptors in a rat model of intrauterine growth restriction. *J. Physiol.*, 562(3): 937-950, 2004.
- Beilin, L.J.; Deacon, J.; Michael, C.A.; Vandongen, R.; Labor, C.M.; Barden, A.E.; Davidson, L.; Rouse, I. Diurnal rhythms of blood pressure, plasma renin activity, angiotensin II and catecholamines in normal and hypertensive pregnancy. *Clin. Exper. Hypertens.*, 2: 271-293, 1983.
- Beitins, I.Z.; Bayard, F.; Levitsky, L.; Ances, I.G.; Kowarski, A.; Migeon, C.J. Plasma aldosterone concentration at delivery and during the newborn period. *J. Clin. Invest.*, 51: 386-394, 1972.
- Bell, A.W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.*, 73: 2804-2819, 1995.
- Bell, A.W.; Hay, W.W.; Ehrhardt, R.A. Placental transport of nutrients and its implications for fetal growth. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 54: 401-410, 1999.
- Benter, I.F.; Diz, D.I.; Ferrario, C.M. Pressor and reflex sensitivity is altered in spontaneously hypertensive rats treated with angiotensin (1-7). *Hypertension*, 26: 1138-1144, 1995.
- Bentley-Lewis, M.D.; Graves, S.W.; Seely, E.W. The renin aldosterone response to stimulation and suppression during normal pregnancy. *Hypertens. Pregnancy*, 24: 1-16, 2005.
- Bergendahl, M.; Iranmanesh, A.; Mulligan, T.; Veldhuis, J.D. Impact of age in cortisol secretory dynamics basally and as driven by nutrient withdrawal stress. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 85(6): 2203-2214, 2000.
- Berger, M.; Langhans, J. Angiotensinase activity in pregnant and non pregnant women. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 98: 215-228, 1967.
- Bergfelt, R. Anatomy and physiology of the mare. En: *Equine Breeding Management and Artificial Insemination*. Samper J.C. (ed.) Saunders Company; Philadelphia. pp. 141-154, 2000.
- Berlink, B.; Correa, J.; Evangelista, A.; Peixoto, R.; Penteado, C. Constituintes hematimétricos do sangue de éguas gestantes de raça árabe. *Vet. Notícias, Uberiândia*, 6(1): 51-55, 2000.
- Berry, C.; Clark, A.L. Catabolism in chronic heart failure. *Eur. Heart J.*, 21: 521-532, 2000.
- Berry, R.J., Jakobson, M.E. Adaptation and adaptability in wild living mice (*Mus musculus*). *J. Zool. Lond.*, 176: 391-402, 1975.
- Berssenbrugge, A.D.; Goddfriend, T.L.; Ball, D.L.; Rankin, J.H. The effect of pregnancy on the angiotensin II pressor response in the rabbit. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 136(6): 762-767, 1980.
- Best, P.J.; Berger, P.B.; Miller, V.M.; Lerman, A. The effect of estrogen replacement therapy on plasma nitric oxide and endothelin 1 levels in postmenopausal women. *Ann. Intern. Med.*, 128: 285-288, 1998.
- Betteridge, K.J. The structure and function of the equine capsule in relation to embryo manipulation and transfer. *Equine Vet. J. Suppl.*, 8: 92-100, 1989.
- Beygui, F.; Collet, J.P.; Benoliel, J.J.; Vignolles, N.; Dumaine, R.; Barthélémy, O.; Montalescot, G. High plasma aldosterone levels on admission are associated with death in patients presenting with acute ST elevation myocardial infarction. *Circulation*, 114: 2604-2610, 2006.
- Bhatnagar, S.; Shanks, N.; Meaney, M.J. Hypothalamic pituitary adrenal function in handled and nonhandled rats in response to chronic stress. *J. Neuroendocrinol.*, 7: 101-109, 1995.
- Bhavnani, B.R.; Short, R.V. Formation of steroids by the pregnant mare. IV. Metabolism of 14C-mevalonic acid and 3H-dehydroisoandrosterone injected into the fetal circulation. *Endocrinology*, 92: 1397-1404, 1973.
- Bird, E.; Contreras, R.J. Dietary salt affects fluid intake and output patterns of pregnant rats. *Physiol. Behav.*, 37: 365-369, 1986.
- Bird, I.M.; Zheng, J.; Cale, J.M.; Magness, R.R. Pregnancy induces an increase in angiotensin II type I receptor expression in uterine but not systemic artery endothelium. *Endocrinology*, 138(1): 490-498, 1997.
- Blair-West, J.R.; Coghlan, J.P.; Denton, D.A.; Munro, J.A.; Wintour, M.; Wright, R.D. The effect of bilateral nephrectomy and midcollicular decerebration with pinealectomy and hypophysectomy of the corticosteroid secretion of sodium deficient sheep. *J. Clin. Invest.*, 43(8): 1576-1595, 1964.
- Blood, D.C.; Radostic, O.M. *Veterinary medicine*. 7<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Bailliere Tindall, London, U.K., 1989.
- Boddy, K.; Dawes, G.S.; Fisher, R.; Pinter, S.; Robinson, J.S. Foetal respiratory movements, electrocortical and cardiovascular responses to hypoxaemia and hypercapnia in sheep. *J. Physiol.*, 243: 599-618, 1974.
- Boden, G. Fuel metabolism in pregnancy and in gestational diabetes mellitus. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.*, 23: 1-10, 1996.
- Bokal, E.V.; Vrtovec, H.M.; Virant Klun, I.; Verdenik, I. Prolonged HCG action effects angiogenic substances and improves follicular maturation, oocyte quality and fertilization competence in patients with polycystic ovarian syndrome. *Human Reprod.*, 20(6): 1562-1568, 2005.

- Bollwein, H.; Weber, F.; Steffen, S.; Stoll, R. The effect of acetylsalicylic acid and captopril on uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology*, 61(2-3): 301-309, 2004.
- Boonshaft, B.; O'Connell, J.M.B.; Hayes, J.M.; Schreiner, G.E. Serum renin activity during normal pregnancy: effect of alterations of posture and sodium intake. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 28(11): 1641-1644, 1968.
- Borghi, C.; Veronesi, M.; Cosentino, E.; Cicero, A.; Kuria, F.; Dormi, A.; Ambrosioni, E. Interaction between serum cholesterol levels and the renin-angiotensin system on the new onset of arterial hypertension in subjects with high normal blood pressure. *J. Hypertens.*, 25(10): 2051-2057, 2007.
- Botella, J.; Clavero, J.A. Cambios generales del organismo materno durante la gestación. En: *Tratado de Ginecología*. 10ª ed. Tomo I. Fisiología femenina. Científico-Médica, pp. 269-285, 1974.
- Botero, U.; Júbiz, H.; Henao, G. *Ginecología y Obstetricia*. 6ª ed. Editorial de la Universidad de Antioquia, pp. 33-34, 2000.
- Bottari, D.P.; de Gasparo, M.; Steckelings, U.M.; Levens, N.R. Angiotensin II receptor subtypes: Characterization, signalling mechanisms and possible physiological implications. *Front. Neuroendocrinol.*, 14: 123-171, 1993.
- Bottoms, G.D.; Roesel, O.F.; Rausch, F.D.; Akins, E.L. Circadian variation in plasma cortisol and corticosterone in pigs and mares. *Am. J. Vet. Res.*, 33: 785-790, 1972.
- Brabant, A.; Brabant, G.; Schuermeyer, T. The role of glucocorticoids in the regulation of thyrotropin. *Acta Endocrinol.*, 121: 95-100, 1989.
- Brilla, C.G.; Zhou, G.; Rupp, H.; Maisch, B.; Weber, K.T. Role of angiotensin II and prostaglandin E2 in regulating cardiac fibroblast collagen turnover. *Am. J. Cardiol.*, 76: 8-13, 1995.
- Brochu, M.; Gauvin, J.P.; St. Louis, J. Increase of aldosterone secretion in adrenal cortex suspensions derived from pregnant rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 212: 147-152, 1996.
- Brochu, M.; Lehoux, J.G.; Picard, S. Effects of gestation on enzymes controlling aldosterone synthesis in the rat adrenal. *Endocrinology*, 138(6): 2354-2348, 1997.
- Brochu, M.; Roy-Clavel, E.; Picard, S.; St-Louis, J. In vivo regulation of enzymes controlling aldosterone synthesis in pregnant rats. *J. Endocrinol.*, 24(3-4): 575-579, 1998.
- Brody, S.; Spitz, S. Plasma, extracellular, and interstitial fluid volumen in pregnancy complicated by toxemia. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 46: 138-150, 1967.
- Brosnihan, K.B.; Senanayake, P.S.; Li, P.; Ferrario, C.M. Bidirectional actions of estrogen on the renin angiotensin system. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 32: 373-381, 1999.
- Brosnihan, K.B.; Neves, L.A.; Anton, L.; Joyner, J.; Valdés, G.; Merrill, D. Enhanced expression of Ang (1-7) during pregnancy. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 37: 1255-1262, 2004.
- Broughton Pipkin, F. The renin angiotensin system in mother and foetus. *Equine vet. J.*, 16(4): 253-255, 1984.
- Broughton Pipkin, F. The renin angiotensin system in normal and hypertensive pregnancies. En: *Handbook of Hypertension: Hypertension in Pregnancy*. Rubin, P.C. (ed.) Amsterdam. Elsevier, pp. 118-141, 1988.
- Broughton Pipkin, F.; Baker, P. Angiotensin II has depressor effects in pregnant and nonpregnant women. *Hypertension*, 30: 1247-1252, 1997.
- Broughton Pipkin, F.; Lumbers, E.; Mott, J. Factors influencing plasma renin and angiotensin II in the conscious pregnant ewe and its foetus. *J. Physiol.*, 243: 619-636, 1974, b.
- Broughton Pipkin, F.; Kirkpatrick, S.M.L.; Lumbers, E.R.; Mott, J.C. Renin and angiotensin levels in foetal, newborn and adult sheep. *J. Physiol.*, 241: 575-588, 1974, a.
- Broughton Pipkin, F.; Morrison, R.; O'Brien, P.M.S. The effect of prostaglandin E1 upon the pressor and hormonal response to exogenous angiotensin II in human pregnancy. *Clin. Sci.*, 72: 351-357, 1987.
- Broughton Pipkin, F.; Morrison, R.; O'Brien, P.M. Prostacyclin attenuates both pressor and adrenocortical response to angiotensin II in human pregnancy. *Clin. Sci.*, 76: 529-534, 1989.
- Broughton Pipkin, F.; Roberts, J.M. Hypertension in pregnancy. *J. Hum. Hypertens.*, 14(10-11): 705-724, 2000.
- Broughton Pipkin, F.; Rossdale, P.; Frauenfelder, H. Changes in the renin angiotensin system of the mare and foal at parturition. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 32: 555-561, 1982.
- Broughton Pipkin, F.; Smales, OR; O'Callaghan, M. Renin and angiotensin levels in children. *Arch. Dis. Child.* 56(4): 298-302, 1981.
- Broughton Pipkin, F.; Symonds, EM. The renin-angiotensin system in the maternal and fetal circulation in pregnancy hypertension. *Clin. Obst. Gynaecol.*, 4(3): 651-664, 1977.
- Brown, J.J.; Davies, D.L.; Doak, P.B.; Lever, A.F.; Robertson, J.I.S. Plasma renin in normal pregnancy. *Lancet.*, 2: 900-901, 1963.

- Brown, J.J.; Davies, D.L.; Lever, A.F.; Robertson, J.I.S. Variations in plasma renin during the menstrual cycle. *Br. Med. J.*, 2: 1114-1115, 1964.
- Brown, J.J.; Davies, D.L.; Lever, A.F.; Robertson, J.I.S. Plasma renin in hypertension and in a patient with oversecretion of ADH. *J. Endocrinol.*, 32: 5-7, 1965.
- Brown, J.J.; Davies, D.L.; Doak, P.B.; Lever, A.F.; Robertson, J. Serial estimation of plasma renin concentration during pregnancy and after parturition. *J. Endocrinol.*, 35: 373-378, 1966.
- Brown, M.A.; Broughton Pipkin, F.; Symonds, E.M. The effects of intravenous angiotensin II upon blood pressure and sodium and urate excretion in human pregnancy. *J. Hypertens.*, 6(6): 457-464, 1988.
- Brown, M.A.; Nicholson, E.; Ross, M.R.; Gallery, E.D. Progressive resetting of sodium renin aldosterone relationships in human pregnancy. *Clin. Exp. Hypertens.*, 5: 349-374, 1987.
- Brown, M.A.; Thou, S.T.; Whitworth, J.A. Stimulation of aldosterone by ACTH in normal and hypertensive pregnancy. *Am. J. Hypertens.*, 8(3): 260-267, 1995.
- Brown, M.A.; Zammit, V.C.; Mitar, D.A.; Whitworth, J.A. Renin aldosterone relationships in pregnancy induced hypertension. *Am. J. Hypertens.*, 5: 366-371, 1992.
- Brown, N.J.; Vaughn, D.E. Angiotensin converting enzyme inhibitors. *Circulation*, 97: 1411-1420, 1998.
- Bruin, G.; Kuipers, H.; Keizer, H.A.; Vander Vusse, G.J. Adaptation and overtraining in horses subjected to increasing training load. *J. Appl. Physiol.*, 76: 1908-1913, 1994.
- Brunet de la Grange, P.; Ivanovic, Z.; Leprivey-Lorgeot, V.; Praloran, V. Angiotensin II that reduces the colony forming ability of hematopoietic progenitors in serum free medium has an inverse effect in serum supplemented medium. *Stem Cells*, 20(3): 269-271, 2002.
- Burrow, G.N.; Ferris, T.F. Medical complications during pregnancy. 4<sup>th</sup> ed. Burrow, G.N.; Ferris, T.F. (eds.) W.B. Saunders. Philadelphia, pp. 381-403, pp. 1-28, 1995.
- Butte, N.F. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71: 1256-1261, 2000.
- Butts, W.C. Clinically significant reference intervals. *Am. J. Vet. Tech.*, 48: 587-594, 1982.
- Cain, M.D.; Walters, W.A.; Catt, K.J. Effects of oral contraceptive therapy on the renin angiotensin system. *J. Clin. Endocrinol.*, 33: 671-676, 1971.
- Caldas, M.C.; Perdigo, F.R.; Silva, A.A. Concentração de progesterona plasmática em éguas da raça "Brasileiro de Hipismo" no período pós-parto. *Arch. Vet.*, 6: 151-158, 1990.
- Campbell, D.J. Circulating and tissue angiotensin systems. *J. Clin. Invest.*, 79: 1-7, 1987.
- Car, B.D. Erythropoiesis and erythrokinetics. En: Schalm's Veterinary Hematology. Lippincott Williams & Wilkins, pp. 105-108, 2000.
- Carey, R.M.; Thorner, M.O.; Ortt, E.M. Effects of metoclopramide and bromocriptine on the renin angiotensin aldosterone system in man. Dopaminergic control of aldosterone. *J. Clin. Invest.*, 63: 727-735, 1980.
- Carlson, G.P. Blood chemistry body fluids and haematology. En: Equine Exercise Physiology 2. Gillespie, J.R.; Robinson, N.E. (eds.) Davis, ICEEP, pp. 393-425, 1987.
- Carlson, G.P. Clinical chemistry test. En: Large Animal Internal Medicine. Smith, B. P. (ed.) C.V. Mosby Company, St. Louis, pp. 386-414, 1990.
- Carnevale, E.M.; Bergfelt, D.R.; Ginther, O.J. Aging effects on follicular activity and concentrations of FSH, LH, and progesterone in mares. *Anim. Reprod. Sci.*, 31: 287-299, 1993.
- Carnevale, E.M.; Bergfelt, D.R.; Ginther O.J. Follicular activity and concentrations of FSH and LH associated with senescence in mares. *Anim. Reprod. Sci.*, 35: 231-246, 1994.
- Carr, B.; Gant, N. The endocrinology of pregnancy induced hypertension. *Clin. Perinatol.*, 10(3): 737-761, 1983.
- Carvalho, E.G.; Franci, C.R.; Antunes-Rodrigues, J.; Gutkowska, J.; Favaretto, A.L.V. Salt overload does not modify plasma atrial natriuretic peptide or vasopressin during pregnancy in rats. *Exp. Physiol.*, 83: 503-511, 1998.
- Castillo, C.; Hernández, F.; Bravo, A.; López Alonso, M.; Pereira, V.; Benedito, J.L. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *Vet. J.*, 169: 286-292, 2005.
- Catt, K.J.; Baukal, A.; Ashburn, M. The renin angiotensin system during oral contraceptive therapy and pregnancy. En: Oral Contraceptives and High Blood Pressure. Fregly, M.J.; Fregly, M.S. (eds.) Gainesville, Dolphin, pp. 211, 1974.
- Cebulj-Kadunc, N.; Bozic, M.; Kosec, M.; Cestnik, V. The influence of age and gender on haematological parameter in Lippizan horses. *J. Vet. Med. A.*, 49(4): 217-221, 2002.
- Cebulj-Kadunc, N.; Kosec, M.; Cestnik, V. Serum thyroid and steroid hormone levels in Lippizan horses. *Slov. Vet. Res.*, 40(1): 9-16, 2003.
- Çelebi, M.; Demirel, M. Pregnancy diagnosis in mares by determination of oestradiol 17- $\beta$  hormone in faeces. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 27: 373-375, 2003.
- Cerdá, J.; Pereyra, J.C. Fisiopatología de la preeclampsia. ¿Qué hay de nuevo? *Rev. Med. Uruguay*, 3: 225-230, 1987.



- Chandler, K.J.; Dixon, R.M. Urinary cortisol: creatinine ratios in healthy horses and horses with hyperadrenocorticism and non-adrenal disease. *Vet. Rec.*, 150: 773-776, 2002.
- Chapman, A.B.; Zamudio, S.; Woodmansee, W.; Merouani, A.; Osorio, F.; Johnson, A.; Moore, L.G.; Dahms, T.; Coffin, C.; Abraham, W.T.; Schrier, R.W. Systemic and renal hemodynamic changes in the luteal phase of the menstrual cycle mimic early pregnancy. *Am. J. Physiol.*, 279: 777-782, 1997.
- Chavatte, P.; Holtan, D.; Ousey, J.C.; Rossdale, P.D. Biosynthesis and possible biological roles of progestagens during equine pregnancy and in the newborn foal. *Equine Vet. J. Suppl.*, 24: 89-95, 1997.
- Chavatte-Palmer, P.; Duchamp, G.; Palmer, E.; Ousey, J.C.; Rossdale, P.D.; Lombes, M. Progesterone, oestrogens and glucocorticoid receptors in the uterus and mammary glands of mares from mid to late gestation. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 56: 661-672, 2000.
- Chen, L.Y.; Li, P.; He, Q.; Jiang, L.Q.; Cui, C.J.; Xu, L.; Liu, L.S. Transgenic study of the function of chymase in heart remodeling. *J. Hypertens.*, 20(10): 2047-2055, 2002.
- Chen, K.; Merrill, D.C.; Rose, J.C. The importance of angiotensin II subtype receptors for blood pressure control during mouse pregnancy. *Reprod. Sci.*, 14(7): 694-704, 2007.
- Chen, Y.F.; Naftilan, A.J.; Oparil, S. Androgen dependent angiotensinogen and renin messenger RNA expression in hypertensive rats. *Hypertension*, 19: 456-463, 1992.
- Chesley, L.C. A study of extracellular water changes in pregnancy. *Surg. Gynec. Obstet.*, 76: 589, 1943.
- Chesley, L.C.; Talledo, E.; Bohler, C.S.; Zuspan, F.P. Vascular reactivity to angiotensin II and the norepinephrine in pregnant woman. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 91: 837-842, 1965.
- Chidambaram, M.; Duncan, J.A.; Lai, V.S.; Cattran, D.C.; Floras, J.S.; Scholey, J.W.; Miller, J.A. Variation in the renin angiotensin system throughout the normal menstrual cycle. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 13: 446-452, 2002.
- Churchill, S.E.; Bengel, H.H.; Alexander, E.A. Sodium balance during pregnancy in the rat. *Am. J. Physiol.*, 239: 143-148, 1980.
- Cingolani, H.E.; Villa-Abrille, M.C.; Cornelli, M.; Nelly, A.; Ennis, I.L.; Garciamena, C.; Suburo, A.M.; Torbidoni, V.; Correa, M.V.; Camili6n de Hurtado, M.D.; Aiello, E.A. The positive inotropic effect of angiotensin II. Role of endothelin-1 and reactive oxygen species. *Hypertension*, 47: 727, 2006.
- Clark, J.H.; Marcaverich, B.H. Actions of ovarian steroid hormones. En: *The Physiology of Reproduction*. Knobil, E.; Neil, J. (eds.) Raven Press Ltd., New York, pp. 675-719, 1988.
- Clarke, L.L.; Garner, H.E.; Hatfield, D. Plasma volume, electrolyte and endocrine changes during onset of laminitis hypertension in horses. *Am. J. Vet. Res.*, 43(9): 1551-1555, 1982.
- Clarke, L.L.; Ganjam, V.K.; Fichtenbaum, B. Effects of feeding on renin angiotensin aldosterone system of the horse. *Am. J. Physiol.*, 254: 524-530, 1988.
- Clarke, L.L.; Argenzio, R.A.; Roberts, M.C. Effect of meal feeding on plasma volume and urinary electrolyte clearance in ponies. *Am. J. Vet. Res.*, 51: 571-576, 1990.
- Clarke, L.L.; Roberts, M.C.; Grubb, B.R.; Argenzio, R.A. Short-term effects of aldosterone on Na-Cl transport across equine colon. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 262: 939-946, 1992.
- Coghlan, J.P.; Blair-West, J.R. Aldosterone. En: *Hormones in Blood*. vol. 2. Gray, C.H. (ed.). New York: Academic Press Inc. pp. 494-609, 1967.
- Cohn, J.N. Future directions in vasodilator therapy for heart failure. *Am. Heart J.*, 121(3): 969-974, 1991.
- Cole, D.J.; Whitney, M.S. Interpreting a bovine CBC: collecting a sample and evaluating the erythron. *Vet. Med.*, 4: 460-468, 1997.
- Coles, E.H. *Veterinary clinical pathology*. 2<sup>a</sup> ed. W. B. Co. Saunders. Philadelphia, 1974.
- Collins, K.J. Effects of aldosterone and spironolactone on Na: K in drug induced sweat. *Clin. Sci. (Colch.)*, 30: 207-221, 1966.
- Conrad, K.P. Mechanisms of renal vasodilation and hyperfiltration during pregnancy. *J. Soc. Gynaecol. Investig.*, 11: 438-448, 2004.
- Cooley, J.L.; Hinchcliff, K.W.; McKeever, K.H.; Lamb, D.R.; Muir, W.W. 3rd. Effect of furosemide on plasma atrial natriuretic peptide and aldosterone concentrations and renin activity in running horses. *Am. J. Vet. Res.*, 55(2): 273-277, 1994.
- Coomer, R.; Forhead, A.J.; Bathe, A.P.; Head, M.J. Plasma angiotensin converting enzyme (ACE) concentration in Thoroughbred race horses. *Equine Vet. J.*, 35(1): 96-98, 2003.
- Corman, B.; Michel, J.B. Renin angiotensin system, converting enzyme inhibition, and kidney function in aging female rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 251: 450-455, 1986.
- Corman, B.; Barrault, M.B.; Klinger, C.; Hout, A.M.; Michel, J.B.; Della Bruna, R.; Pinet, F.; Soubrier, F. Renin gene expression in the aging kidney: effect of sodium restriction. *Mech. Ageing. Dev.*, 84: 1-13, 1995.
- Cornelius, C.E.; Baker, N.F.; Kaneko, J.J.; Douglas, J.R. Distribution and turnover of iodine-131 tagged

- bovine albumin in normal and parasitized cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 23: 837-842, 1962.
- Costa, A.; Fagundes-Moura, C.R.; Pereira, V.M.; Silva, L.F.; Vieira, M.A.; Santos, R.A.; Dos Reis, A.M. Angiotensin-(1-7): a novel peptide in the ovary. *Endocrinol.*, 144(5): 1942-1948, 2003.
- Costerousse, O.; Alegrini, J.; Huang, H.; Bounhik, J.; Alhenc-Gelas, F. Regulation of ACE gene expression and plasma levels during rat postnatal development. *Am. J. Physiol.*, 267(5): 745-753, 1994.
- Cotes, P.M.; Canning, C.E.; Lind, T. Changes in serum immunoreactive erythropoietin during the menstrual cycle and normal pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 90: 304-311, 1983.
- Coulthard, M.G.; Lamb, W.H. Polycythaemia and hypertension caused by renal artery stenosis. *Arch. Dis. Child.*, 86: 307-308, 2002.
- Cousins, L.; Rigg, L.; Hollingsworth, D.; Meis, P.; Halberg, F.; Brink, G.; Yen, S.S.C. Qualitative and quantitative assesment of the circadian rhythm of cortisol in pregnancy. *Am. J. Obst. Gynaecol.*, 145: 411-418, 1983.
- Cox, J.E. Oestrone and Equilin in the plasma of the pregnant mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 23: 463-468, 1975.
- Cozza, E.N.; Foeking, M.F.; Vila, M.C.; Gómez-Sánchez, C.E. Adrenal receptors for natriuretic peptides and inhibition of aldosterone secretion in calf zona glomerulosa cells in culture. *Acta Endocrinol.*, 129(1): 59-64, 1993.
- Cudd, T.A.; LeBlanc, M.; Silver, M.; Madison, J.; Keller-Wood, M.; Wood, C.E. Ontogeny and ultradian rhythms of adrenocorticotropin and cortisol in the late gestation fetal horse. *J. Endocrinol.*, 144(2): 271-283, 1995.
- Cuenca, R.; Pastor, J. Utilidad del hemograma en la clínica equina. *Equinus*, 14: 11-27, 2006.
- Cunningham, J.G. Sistema endocrino. En: *Fisiología Veterinaria*. 3ª ed. Editorial McGraw-Hill, Interamericana. México, pp. 458-464, 2003.
- d'Auriac, G.A.; Baudouin, M.; Meyer, P. Mechanism of action of angiotensin in smooth muscle cell. *Circ. Res.*, 31(9): 151-160, 1972.
- Daels, P.F.; Ammon, D.C.; Stabenfeldt, G.H.; Liu, I.K.; Hughes, J.P.; Lasley, B.L. Urinary and plasma estrogen conjugates, estradiol and estrone concentrations in nonpregnant and early pregnant mares. *Theriogenology*, 35(5): 1001-1017, 1991.
- Daels, P.F. Progesterone therapy and pregnancy loss. *Proceeding 8ª A.A.E.P. Annual Resort Symposium*. Rome, Italy. January 19-21, 2006.
- Dandrea, J.; Cooper, S.; Ramsay, M.; Keller-Woods, M.; Broughton Pipkin, F.; Symonds, M.; Stephenson, T. The effects of pregnancy and maternal nutrition on the maternal renin angiotensin system in sheep. *Exp. Physiol.*, 87(3): 353-359, 2002.
- Davies Morel, M.C.G. *Equine reproductive physiology, breeding and stud management*, 2ª ed. Wallindorf, U. K. New York: CABI, pp. 68-73, 2003.
- Davis, J.L.; Gardner, S.Y.; Schwabenton, A.B.; Breuhaus, B. Congestive heart failure in horses: 14 cases (1984-2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 220: 1512-1515, 2002.
- Davis, J.O.; Lindsay, A.E.; Southworth, J.L. Mechanisms of fluid and electrolyte retention in experimental preparations in dogs. I. Acute and chronic pericarditis. *Bull. Johns. Hpkins. Hosp.*, 90(1): 64-89, 1952.
- Davis, J.O.; Kliman, B.; Yankopoulos, N.A.; Peterson, R.E. Increased aldosterone secretion following acute constriction of the inferior vena cava. *J. Clin. Invest.*, 37: 1783, 1958.
- Davis, J.O.; Freeman, R.H. Mechanisms regulating renin release. *Physiol. Rev.*, 56: 1-56, 1976.
- Day, R.P.; Luetscher, J.A.; Gonzales, C.M. Occurrence of big renin in human plasma, amniotic fluid and kidney extracts. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 40: 1078-1084, 1975.
- De Vito, E.; Cabrera, R.R.; Fasciolo, J.C. Renin production and release by rat kidney slices. *Am. J. Physiol.*, 219: 1042-1045, 1970.
- Deen, A.; Vyas, S.; Sahani, M.S.; Saharan, P.; Sevta, I.; Chabra, S. Estradiol 17 $\beta$  and progesterone profiles of female camels at different reproductive stages. *Is. J. Vet. Med.*, 62(1): 20-26, 2007.
- Deloof, S.; de Seze, C.; Montel, V.; Chatelain, A. Atrial natriuretic peptide and aldosterone secretions, and atrial natriuretic peptide binding sites in kidneys and adrenal glands of pregnant and fetal rats in late gestation in response to a high salt diet. *Eur. J. Endocrinol.*, 142: 524-532, 2000.
- Demey-Ponsart, E.; Foidart, J.M.; Sulon, J.; Sodoyez, J.C. Serum C.B. Free and total cortisol and circadian patterns of adrenal function in normal pregnancy. *J. Steroid Biochem.*, 16: 165-169, 1982.
- Denker, H.W.; Betteridge, K.J.; Sirois, J. Shedding of the capsule and proteinase activity in the horse embryo. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 35: 703, 1987.
- Derkx, F.H.; Stuenkel, C.; Schalekamp, M.P.; Visser, W.; Huisveld, I.H.; Schalekamp, M.A. Immunoreactive renin, prorenin, and enzymatically active renin in plasma during pregnancy and in women taking oral contraceptives. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 63: 1008-1015, 1986.

- Derckx, F.H.; Alberda, A.T.; De Jong, F.H.; Zeilmaker, F.H.; Makovitz, J.W.; Schalekamp, M.A. Source of plasma prorenin in early and late pregnancy: Observations in a patient with primary ovarian failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 65: 349-354, 1987.
- Descamps, P.; Marret, H.; Binelli, C.; Chaplot, S.; Gillard, P. Body changes during pregnancy. *Neurochirurgie*, 46(2): 68-75, 2000.
- Desmecht, D.; Linden, A.; Amory, H.; Art, T.; Lekeux, P. Relationship of plasma lactate production to cortisol release following competition of different types of sporting events in horses. *Vet. Res. Comm.*, 20(4): 371-379, 1996.
- Detlef, C. Untersuchungen über das rote Blutbild und der Eisenversorgungsanzeigenden Parameter bei Stuten und deren Fohlen im peripartalen Abschnitt unter besonderer Berücksichtigung einer Eisensubstitution. Inaugural Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades bei dem Fachbereich Veterinärmedizin und Tierzucht der Justus-Liebig-Universität zu Gießen, 1985.
- Dickinson, C.E.; Lori, D.N. Diagnostic workup for weight loss in the geriatric horse. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 8: 523-531, 2002.
- Domingo, R. Evolución de la cortisolemia en yeguas Pura Raza Española durante la gestación. Trabajo de Investigación Tutelado. Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Universidad CEU-Cardenal Herrera, Valencia, 2006.
- Doreau, M.; Boulot, S. Recent knowledge on mare milk production: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 2: 213-235, 1989.
- Douglas, R.H. Endocrine diagnostics in the broodmare: What you need to know about progestins and estrogens. *Proc. Soc. Theriogenol.*, pp. 106-115, 2004.
- Duckitt, K. Infertility and subfertility. *Clin. Evidence*, (9): 2044-2073, 2003.
- Ducrot, F.; Turc-Baron, C.; Pointet, P.; Vernin, G.; Skowron, O.; McGregor, B.; Gasc, J.M.; Beaune, G.; Vincent, M. Renin secreting tumour: About a new diagnosed case during pregnancy. *Nephrol. Ther.*, 1(1): 52-61, 2005.
- Duggan, J.; Kilfeather, S.; O'Brien, E.; O'Malley, K.; Nussberger, J. Effects of aging and hypertension on plasma angiotensin II and platelet angiotensin II receptor density. *Am. J. Hypertens.*, 5: 687-693, 1992.
- Duley, L.; Henderson-Smart, D. Reduced salt intake compared with normal dietary salt, or high intake, in pregnancy. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2: CD001687, 2000.
- Dunlap, J.S.; Dickson, W.M. The effect of age and pregnancy on ovine blood protein fractions. *Am. J. Vet. Res.*, 16: 91-95, 1955.
- Dutton, A.; Mott, J.C. Hypernatraemia in sheep pregnancy. *J. Physiol. Lond.*, 11: 33-34, 1979.
- Duvekot, J.J.; Cheriex, E.C.; Pieters, F.A.; Menheere, P.P.; Peters, L.L. Early pregnancy changes in haemodynamics and volume homeostasis are consecutive adjustments triggered by a primary fall in systemic vascular tone. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 169: 1382-1392, 1993.
- Duvekot, J.J.; Cheriex, E.C.; Pieters, F.A.; Menherre, P.P.; Schouten, H.J.; Peeters, L.L. Maternal volume homeostasis in early pregnancy in relation to fetal growth restriction. *Obstet. Gynecol.*, 85: 361-367, 1995.
- Duvekot, J.J.; Peeters, L.L. Renal hemodynamics and volume homeostasis in pregnancy. *Obstet. Gynecol. Surv.*, 49: 830-839, 1994.
- Dzau, V.J. Circulating versus local renin-angiotensin system in cardiovascular homeostasis. *Circulation*, 77(1): 4-13, 1988.
- Dzau, V.J.; Bernstein, K.; Celermajer, D.; Cohen, J.; Dahlof, B.; Deanfield, J.; Diez, J.; Drexler, H.; Ferrari, R.; van Gilst, W.; Hansson, L.; Hornig, B.; Husain, A.; Johnston, C.; Lazae, H.; Lonn, E.; Luscher, T.; Mancini, J.; Mimran, A.; Pepine, C.; Rabelink, T.; Remme, W.; Ruilope, L.; Ruzicka, M.; Schunkert, H.; Swedberg, K.; Unger, T.; Vaughan, D.; Weber, M. The relevance of tissue angiotensin converting enzyme: manifestations in mechanistic and end point data. *Am. J. Cardiol.*, 88(1): 1-20, 2001.
- Eades, S.C.; Bounous, D.I. Laboratory profiles of equine diseases. Ed. Mosby Co. St Louis, 1997.
- Easley, J.R. Erythrogram and red cell distribution width of equidae with experimentally induced anemia. *Am. J. Vet. Res.*, 46: 2378-2384, 1985.
- Ecker, G.L.; Lindinger, M.I. Water and ion losses during the cross country phase of eventing. *Equine Vet. J.*, 20: 111-119, 1995.
- Egarter, C.H.; Husslein, P. Biochemistry of myometrial contractility. *Baillieres Clin. Obstet. Gynaecol.*, 6(4): 755-769, 1992.
- Eggena, P.; Chu, C.L.; Barrett, J.D.; Sambhi, M.P. Purification and partial characterization of human angiotensinogen. *Biochim. Biophys. Acta*, 427(1): 208-217, 1976.
- Ehrlich, E.N.; Lindheimer, M.D. Effect of administered mineralocorticoids or ACTH in pregnant women. Attenuation of kaliuretic influence of mineralocorticoids during pregnancy. *J. Clin. Invest.*, 51: 1301, 1972.
- Ehrlich, E.N.; Nolten, W.E.; Oparil, S. Mineralocorticoids in normal pregnancy. In: Hypertension in Pregnancy. Lindheimer, M.D.; Katz, A.I.; Zuspan, F.P. (eds.) New York, John Wiley and Sons, pp. 189, 1976.

- El Amrousi, S.; Soliman, M.K. Serum calcium, potassium and sodium of healthy horses three to fourteen years of age. *Can. Vet. J.*, 6(10): 253-256, 1965.
- ELKarib, E.O.; Green, R. Effect of prolonged administration of prolactin on glomerular filtration rate in the rat. *J. Physiol.*, 315: 21-22, 1981.
- Elsheikh, A.; Creatsas, G.; Mastorakos, G.; Milingos, S.; Loutradis, D.; Michalas, S. The renin aldosterone system during normal and hypertensive pregnancy. *Arch. Gynaecol. Obstet.*, 264: 182-185, 2001
- Erdős, E.G. Conversion of angiotensin I to angiotensin II. *Am. J. Med.*, 60(6): 749-759, 1976.
- Erdős, E.G. The discovery of captopril: reply. *FASEB J.* 18(2): 226, 2004.
- Erman, A.; Winkler, J.; Chen-Gal, B. Inhibition of angiotensin converting enzyme by ramipril in serum and tissue of man. *J. Hypertens.*, 9: 1057-1062, 1991.
- Escribano, B.M.; Castejón, F.M.; Agüera, E.I.; Muñoz, A.; Rubio, M.D. Estudio del leucograma en potros de Pura Raza Española sometidos a un ejercicio de intensidad creciente. *Med. Vet.*, 12 (3): 188-193, 1995, a.
- Escribano, B.M.; Castejón, F.M.; Santisteban, R.; Agüera, E.I.; Rubio, M.D. Effect of training on diverse hematologic parameters in Andalusian horses. *Rev. Esp. Fisiol.*, 51(4): 207-212, 1995, b.
- Eustace, R. Equine pituitary neoplasia. *In Pract.*, 13: 147-148, 1991.
- Evans, J.W. Effect of fasting, gestation, lactation and exercise on glucose turnover in horses. *J. Anim. Sci.*, 33: 1001-1004, 1971.
- Evans, M.J.; Irvine, C.H.G. Serum concentrations of FSH, LH and progesterone during the oestrous cycle and early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 23: 193-200, 1975.
- Everitt, J.C.; Meites, J. Anti aging effects of hormones. *Gerontol.*, 44: 1139-1147, 1989.
- Fagundes, V.G.; Lamas, C.C.; Francischetti, E. Renin angiotensin aldosterone system in normal and hypertensive pregnancy: response to postural stimuli. *Hypertension*, 19(2): 74-78, 1992.
- Fawcett, D.W. Tratado de histología. 12<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill Interamericana, pp. 794-800, 1997.
- Felbinger, U. Selected serum constituents in pregnant and lactating thoroughbred mares. *Isr. J. Med.*, 43: 96-103, 1987.
- Ferrario, C.M.; Martell, N.; Yunis, C.; Flack, J.M.; Chappell, M.C.; Brosnihan, K.B.; Dean, R.H.; Fernández, A.; Novokov, S.V.; Pinillas, C.; Luque, M. Characterization of Angiotensin (1-7) in the urine of normal and essential hypertensive subjects. *Am. J. Hypertens.*, 11: 137-146, 1998.
- Ferraz, L.E.S.; Vicente, W.R.R.; Ramos, P.R.R. Progesterone and estradiol 17 $\beta$  concentration, and ultrasonic images of the embryonic vesicle during the early pregnancy in Thoroughbred mares. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 53(4): 1-7, 2001.
- Fiselier, T.; Lijnen, P.; Monnens, L.; Van Munster, P.; Jonsen, M.; Peer, P. Levels of renin, angiotensin I and II, angiotensin converting enzyme and aldosterone in infancy and childhood. *Eur. J. Pediatr.*, 141(1): 3-7, 1983.
- Fiselier, T.; Monnens, L.; Van Munster, P.; Jansen, M.; Peer, P.; Lijnen, P. The renin angiotensin aldosterone system in infancy and childhood in basal conditions and after stimulation. *Eur. J. Pediatr.*, 143(1): 18-24, 1984.
- Fleischman, A.R.; Oakes, G.K.; Epstein, M.F.; Catt, K.J.; Chez, R.A. Renin activity during ovine pregnancy. *Am. J. Physiol.*, 228: 901-907, 1975.
- Flisinska-Bojanowska, A.; Gill, J.; Komosa, M. Influence of pregnancy and lactation on diurnal and seasonal changes in lactic acid and pyruvic acid levels and in values of pH, pCO<sub>2</sub> and pO<sub>2</sub> in the mare blood. *Comp. Biochem. Physiol.*, 98: 497-501, 1991, a.
- Flisinska-Bojanowska, A.; Komosa, M.; Gill, J. Influence of pregnancy on diurnal and seasonal changes in cortisol, T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> levels in mare blood serum. *Comp. Biochem. Physiol.*, 98: 23-30, 1991, b.
- Forhead, A.J.; Broughton Pipkin, F.; Taylor, P.; Baker, K.; Balouzet, V.; Giussani, D.; Fowden, A. Development changes in blood pressure and the renin angiotensin system in pony fetuses during the second half of gestation. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 56: 693-703, 2000.
- Forhead, A.J.; Pipkin, F.B.; Sutherland, M.F.; Fowden, A.L. Changes in the maternal and fetal renin angiotensin systems in response to angiotensin II type 1 receptor blockade and angiotensin-converting enzyme inhibition in pregnant sheep during late gestation. *Exp. Physiol.*, 82: 761-776, 1997.
- Fortagne, M.; Schafer, M. Hematologic parameters of Probstheidaer pigmy goats in relation to pregnancy and lactation. *Arch. Exp. Veterinarmed.*, 43(2): 223-230, 1989.
- Fowden, A.B.; Comline, R.S.; Silver, M. Insulin secretion and carbohydrate metabolism during pregnancy in the mare. *Equine Vet. J.*, 16: 239-246, 1984.
- Fowden, A.L.; Forhead, A.J.; White, K.L.; Taylor, P.M. Equine uteroplacental metabolism at mid and late gestation. *Exp. Physiol.*, 85: 539-545, 2000.
- Fowden, A.L.; Gardner, D.S.; Ousey, J.C.; Giussani, D.A.; Forhead, A.J. Maturation of pancreatic beta cell function in the fetal horse during late gestation. *J. Endocrinol.*, 186(3): 467-473, 2005.

- Fraser, M.; Liggins, G.C. Thyroid hormone kinetics during pregnancy in the ovine fetus. *J. Develop. Physiol.*, 10: 461-467, 1988.
- Freudenthaler, S.M.; Schreeb, K.; Korner, T.; Gleiter, C.H. Angiotensin II increases erythropoietin production in healthy human volunteers. *Eur. J. Clin. Invest.*, 29: 816-823, 1999.
- Fried, W.; Barone-Varelas, J.; Barone, T.; Anagnostou, A. Effect of angiotensin infusion on extrarenal erythropoietin production. *J. Lab. Clin. Med.*, 99: 520-525, 1982.
- Friedman, J.E.; Caro, J.F.; Azevedo, J.E.; Pories, W.J.; Dohm, G.L. Glucose metabolism in incubated human muscle: effect of obesity and non insulin dependent diabetes mellitus. *Metabolism*, 43: 1-9, 1994.
- Fukushige, J.; Shimomura, K.; Ueda, K. Influence of upright activity on plasma renin activity and aldosterone concentration in children. *Eur. J. Pediatr.*, 153(4): 284-286, 1994.
- Fulkerson, W.J.; Tang, B.Y. Ultradian and circadian rhythms in the plasma concentration of cortisol in sheep. *J. Endocrinol.*, 81(1): 135-141, 1979.
- Gaini, R.; Mongiorgi, S. La concentrazione plasmatica de laldosterone el cavallo trottatore a ripiso e sortoposto ad allenamento. *Atti Sot. Ital. Sci. Vet.*, 24: 273-278, 1975.
- Gallery, E.D.; Brown, M.A. Control of sodium excretion in human pregnancy. *Am. J. Kidney Dis.*, 9: 290-295, 1987.
- Ganong, W. Reproduction and the renin angiotensin system. *Neuro. Biobehav. Rev.*, 19(2): 241-250, 1995.
- Gant, N.F.; Daley, G.L.; Chand, S.; Whalley, P.J.; MacDonald, P.C. A prospective study of angiotensin II pressor responsiveness throughout primigravid pregnancy. *J. Clin. Invest.*, 52: 2682- 2689, 1973.
- Gant, N.; Chand, S.; Cunningham, S.G.; MacDonald, P.C. Control of vascular reactivity to angiotensin II in human pregnancy. En: *Hypertension in Pregnancy*. Lindheimer, M.D.; Katz, A.I.; Zuspan, F.P. (eds.) New York, 1976.
- Gant, N.F.; Whalley, P.J.; Everett, R.B.; Borley, R.J.; MacDonald, P.C. Control of vascular reactivity in pregnancy. *Am. J. Kidney Dis.*, 9(4): 303-307, 1987.
- García-Baratute, A.; García, Z.S.; Agüero, V.S. Concentración de hemoglobina y hematócrito en hembras ovinas Pelibuey en estado reproductivo. *Rev. Prod. Anim.*, 14(2): 1-7, 2002.
- García-Robles, R.; Ruilope, L.; Mancheno, E., Hurtado, A., Alcazar, J.M.; Varela, C.; De La Calle, H.; Rodicio, J.L.; Sancho, J. Dopaminergic modulation of aldosterone secretion. Effect of sodium balance and postural changes. *Rev. Esp. Fisiol.*, 40(1): 63-68, 1984.
- Gardner, S.Y.; Atkins, C.E.; Sams, R.A.; Schwabenton, A.B.; Papich, M.G. Characterization of the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of the angiotensin converting enzyme inhibitor, enalapril, in horses. *J. Vet. Intern. Med.*, 18: 231-237, 2004.
- Garland, H.O.; Atherton, J.C.; Baylis, C.; Morgan, M.R.; Milne, C.M. Hormone profile for progesterone, oestradiol, prolactin, plasma renin activity, aldosterone and corticosterone during pregnancy and pseudopregnancy in two strains of rat: correlation with renal studies. *J. Endocrinol.*, 113: 435-444, 1987.
- Garner, H.E.; Coffman, J.R.; Hahn A.W. Equine laminitis of alimentary origin: An experimental model. *Am. J. Vet. Res.*, 36: 441-444, 1975.
- Gatta, D.; Greppi, G.F.; Casini, L.; Pasquini, M.; Colombani, B.; Nordio, C. Feeding schedule and daily fluctuation of haematological parameters in horses. *Gesellschaft fur Ernährungsphysiologie, Göttingen*, pp. 86, 1992.
- Geelhoed, G.W.; Vander, A.J. Plasma renin activities during pregnancy and parturition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 28: 412-415, 1968.
- Gehlen, H.; Vieht, J.C.; Stadler, P. Effects of the ACE inhibitor quinapril on echocardiographic variables in horses with mitral valve insufficiency. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 50(9): 460-465, 2003.
- Gehlen, H.; Sundermann, T.; Rohn, K.; Stadler, P. Aldosterone plasma concentration in horses with heart valve insufficiencies. *Res. Vet. Sci.*, 2007 (en prensa).
- Genest, J.; deChamplain, J.; Veyrat, R.; Boucher, R.; Tremblay, G.Y.; Strong, C.G.; Koiv, E.; Marcaurele, J. Role of the renin angiotensin system in various physiological and pathological states. *Hypertension*, 13: 97-116, 1964.
- Gerald, J.P.; Albretch, E.D. Actions of placental and fetal adrenal steroid hormones in primate pregnancy. *Endocrine Rev.*, 16: 608-634, 1995.
- Gibson, K.J.; Thomson, C.L.; Boyce, A.C.; Karime, B.M.; Lumbers, E.R. Effects of a reduction in maternal renal mass on pregnancy and cardiovascular and renal function of the pregnant ewe. *Am J. Physiol. Renal Physiol.*, 290: 1153-1162, 2006.
- Gill, J.; Flisinska-Bojanowska, A.; Grzelkowska, K. Diurnal seasonal changes in the WBC number, neutrophil percentage and lysozyme activity in the blood of barren, pregnant and lactating mares. *Adv. Agric. Sci.*, 3: 15-23, 1994.
- Gill, J.; Kompanowska-Jeziarska, E.; Jakubow, K.; Kott, A.; Szumska, D. Seasonal changes in the white blood cell system, lysozyme activity and cortisol level in arabian brood mares and their foals. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 81(3): 511-523, 1985.
- Gill, J.; Kompanowska-Jeziarska, E. Seasonal changes in the red blood cell indices in Arabian brood mares

- and their foals. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 83(4): 643-651, 1986.
- Gill, J., Kownacka, M. Seasonal changes in erythrocyte, hemoglobin and leukocyte indexes in pregnant mares of thoroughbred horses. *Bull. Acad. Pol. Sci. Biol.*, 27(2):143-148, 1979.
- Gill, J.; Rastawicka, M. Diurnal changes in the haematological in the blood of racing arabians horses. *Polskie-Archiwum Weterynaryjne*, 26: 169-179, 1986.
- Gill, J.; Wanska, E. Seasonal changes in erythrocyte, hemoglobin and leukocyte indexes in barren mares of thoroughbred horses. *Bull. Acad. Pol. Sci. Biol.*, 26(5): 347-353, 1978.
- Ginther, O.J. Fixation and orientation of the early equine conceptus. *Theriogenology*, 19: 613-623, 1983, a.
- Ginther, O.J. Mobility of the early equine conceptus. *Theriogenology*, 19: 603-611, 1983, b.
- Ginther, O.J. Dynamic physical interactions between the equine embryo and uterus. *Equine Vet. J. Suppl.*, 3: 41-47, 1985.
- Ginther, O.J. Reproductive biology of the mare, basic and applied aspects. 2<sup>a</sup> ed. Equiservices Publishing, Cross Plains, Wisconsin, USA, 1992.
- Glorioso, N.; Troffa, C.; Tonolo, G. Prorenin in the cells of the mature human ovarian follicle. *Clin. Exp. Hypertens.*, 10(6): 1325-1327, 1988.
- Godard, C.; Gaillard, R.; Vallotton, MB. The renin angiotensin aldosterone system in mother and fetus at term. *Nephron.*, 17: 353-360, 1976.
- Goff, J.P.; Horst, R.L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sc.*, 80: 1260-1268, 1997.
- Goldfarb, D.; Sack, J.; Iaia, A.; Eliahou, H. Sodium, potassium and age: possible determinants of plasma renin activity and aldosterone during childhood (age 4-16). *Clin. Endocrinol.*, 15(1): 29-36, 1981.
- Golland, L.C.; Evans, D.L.; McGowan, C.M.; Hodgson, D.R.; Rose, R.J. The effects of overtraining on blood volumes in Standardbred racehorse. *Equine Vet. J.*, 165 (3): 228-232, 2003.
- Gómez Ponce de León, R.; Martínez de Melián, R.E.; Coviello, A.; De Vito, E. Prorenin concentration in the hypertensive disorders in pregnancy. *Hypertens. Pregnancy*, 20: 157-168, 2001.
- González, J.R.; Rejas, J.; Torío, R.; Alonso, A.J.; Prieto, F. Effect of pregnancy on ovine haematology. *Ann. Fac. Vet. León*, 39: 39-44, 1994.
- Gorden, P.; Ferris, T.F.; Mulrow, P.J. Rabbit uterus as a possible site of renin synthesis. *Am. J. Physiol.*, 212: 703-706, 1967.
- Gordon, M.S.; Chin, W.W.; Shupnik, M.A. Regulation of angiotensinogen gene expression by estrogen. *J. Hypertens.*, 10: 361-366, 1992.
- Gordon, R.D.; Parson, S.; Symonds, E.M. A prospective study of plasma renin activity in normal and toxæmic pregnancy. *Lancet*, 1: 347, 1969.
- Gordon, R.D.; Symonds, E.M.; Wilmshurst, E.G. Plasma renin activity, plasma angiotensin and plasma and urinary electrolytes in normal and toxæmic pregnancy, including a prospective study. *Clin. Sci. Mol. Med.*, 45: 115-127, 1973.
- Gordon, M.E.; McKeever, K.H.; Betros, C.L.; Manso Filho, H.C. Exercise induced alterations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin, and cortisol in horses. *Vet. J.*, 173(3): 532-540, 2007.
- Gornall, A.G.; Bardawill, C.S.; David, M.M. Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, 177: 751-766, 1949.
- Gospodorowicz, D. Purification and physicochemical properties of the pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG). *Endocrinology*, 91: 101-106, 1972.
- Gossmann, J.; Burkhardt, R.; Harder, S.; Lenz, T.; Seldmeyer, A.; Klinkhardt, U.; Geiger, H.; Scheuermann, E.H. Angiotensin II infusion increase plasma erythropoietin levels via an angiotensin II type 1 receptor dependent pathway. *Kidney Int.*, 60(1): 83-86, 2001.
- Gould, A.B.; Skeggs, L.T.; Kahn, J.R. Measurement of renin and substrate concentration in human serum. *Lab. Invest.*, 15: 1802-1813, 1966.
- Gouveia, A.J. Valoración de las pruebas de ejercicio aerobio en la estimación de la aptitud para el esfuerzo en el caballo de Raza Lusitana. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, 2003.
- Granger, J.P. Maternal and fetal adaptations during pregnancy: lessons in regulatory and integrative physiology. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 283: 1289-1292, 2002.
- Greenland, K.J.; Sernia, C. Oestrogenic regulation of brain angiotensinogen. *J. Neuroendocrinol.*, 16(6): 508-515, 2004.
- Greppi, G.F.; Casini, L.; Gatta, D.; Orlandi, M.; Pasquini, M. Daily fluctuations of haematology and blood biochemistry in horses fed varying levels of protein. *Equine Vet. J.*, 28(5): 350-353, 1996.
- Groenendyk, S.; English, P.B.; Abetz, I. External balance of water and electrolytes in the horse. *Equine Vet. J.*, 20: 189-193, 1988.
- Guthrie, G.; Genest, J.; Nowaczynski, W.; Boucher, R.; Kuchel, O. Dissociation of plasma renin activity and aldosterone in essential hypertension. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43: 446-448, 1976.

- Guthrie, G.; Cecil, S.; Kotchen, T. Renin, aldosterone and cortisol in the thoroughbred horse. *J. Endocrinol.*, 85: 49-53, 1980.
- Guthrie, G.; Cecil, S.; Darden, E.; Kotchen, T. Dynamics of renin and aldosterone in the Thoroughbred horse. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 48: 296-299, 1982.
- Guyton, A.C. *Tratado de fisiología médica*. 8ª ed. Madrid: Interamericana, 1992.
- Guyton, A.C.; Hall, J.E. *Hormonas corticosuprarrenales*. En: *Tratado de Fisiología Médica*. 9ª ed. Guyton, A.C.; Hall, J.E. (eds.) Interamericana, McGraw-Hill, pp. 1047-1062, 1996.
- Hackam, D.G.; Spence, J.D.; Garg, A.X.; Textor, S.C. Role of renin angiotensin system blockade in atherosclerotic renal artery stenosis and renovascular hypertension. *Hypertension*, 50: 998-1003, 2007.
- Hackenthal, E.; Paul, M.; Ganten, D.; Taugner, R. Morphology, physiology, and molecular biology of renin secretion. *Physiol. Rev.*, 70: 1067-1116, 1990.
- Hafez, S.A.; Freeman, L.E.; Caceci, T.; Smith, B.J. Study of the vasculature of the caprine reproductive organs using the tissue clearing technique, with special reference to the angioarchitecture of the utero ovarian vessels and the adaptation of the ovarian and/or vaginal arteries to multiple pregnancies. *Anat. Rec.*, 290(4): 389-405, 2007.
- Hagedorn, H.W.; Schulz, R. Cortisol levels in blood and urine of trotting horses. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 110(11-12): 456-460, 1997.
- Hagemann, A.; Dantzer, V.; Nielsen, A.H.; Poulsen, K. Renin and prorenin in reproductive tissues during gestation in pig and cattle. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 20(1): 41-50, 1993.
- Hagemann, A.; Nielsen, A.H.; Poulsen, K. The uteroplacental renin angiotensin system: a review. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 102(3): 252-261, 1994.
- Hall, J.E.; Brands, M.W.; Henegar, J.R. Angiotensin II and long term arterial pressure regulation: the overriding dominance of the kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 10(12): 258-265, 1999.
- Hamon, M.; Clarke, S.W.; Houghton, E.; Fowden, A.L.; Silver, M.; Rossdale, P.D.; Ousey, J.C.; Heap, R.B. Production of 5 $\alpha$ -dihydroprogesterone during late pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 44: 529-535, 1991.
- Han, X.; Fowden, A.L.; Silver, M.; Holdstock, N.; McGladdery, A.J.; Ousey, J.C.; Allen, W.R.; Rossdale, P.D.; Challis, J.R.G. Immunohistochemical localisation of the steroidogenic enzymes phenylethanolamine-n-methyl-transferase (PNMT) in the adrenal gland of the fetal and newborn foal. *Equine Vet. J.*, 27: 140-146, 1995.
- Haning, R.; Tait, S.A.; Tait, J.F. In vitro effects of ACTH, angiotensins, serotonin and potassium on steroid output and conversion of corticosterone to aldosterone by isolated adrenal cells. *Endocrinology*, 87(6): 1147-1167, 1970.
- Hansen, M.F.; Todd, A.C.; Mcgee, W.R. Blood pictures of lactating and non lactating thoroughbred mares. *Vet. Med.*, 45(6): 228-230, 1950, a.
- Hansen, M.F.; Todd, A.C.; Kelley, G.W.; Hull, F.E. Studies on hematology of the thoroughbred horse. I. Mares in foal. *Am. J. Vet. Res.*, 11: 296-300, 1950, b.
- Hansen, M.F.; Todd, A.C. Preliminary report on the blood picture of the Arabian horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 118: 26-27, 1951.
- Hanson, C.M.; Kline, K.H.; Foreman, J.H.; Frey, L.P.; Cooper, S.M. Heart and spleen mass related to blood parameter changes after epinephrine injection. *Equine Vet. J. Suppl.*, 18: 113-116, 1995.
- Hanssens, M.; Keirse, M.J.N.C.; Spitz, B.; van Assche, F.A. Angiotensin II levels in hypertensive and normotensive pregnancies. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 98: 155-161, 1991.
- Harbuz, M.S.; Lightman, S.L. Stress and the hypothalamo pituitary adrenal axis: acute, chronic and immunological activation. *J. Endocrinol.*, 134(3): 327-339, 1992.
- Harding, J.W.; Cook, V.I.; Miller-Wing, A.V.; Hanesworth, J.M. Identification of an A II (3-8) (A IV) binding site in guinea pig hippocampus. *Brain Res.*, 583: 340-343, 1992.
- Harewood, W.J.; Gillin, A.; Hennessy, A.; Armitstead, J.; Horvath, J.S. y Tiller, D.J. The effects of the menstrual cycle, pregnancy and early lactation on haematology and plasma biochemistry in the baboon (*Papio hamadryas*). *J. Med. Primatol.*, 29(6): 415-420, 2000.
- Harkema, J.R.; Robinson, N.E.; Scott, J.B. Cardiovascular, acid base, and plasma volume changes in ponies developing alimentary laminitis. *Am. J. Vet. Res.*, 39: 741-744, 1978.
- Harman, J.; Ward, M. The role of nutritional therapy in the treatment of equine Cushing syndrome and laminitis. *Altern. Med. Rev. Suppl.*, 6: 4-16, 2001.
- Harris, P.A.; Snow, D.H. Plasma potassium and lactate concentrations in thoroughbred horses during exercise of varying intensity. *Equine Vet. J.* 23: 220-225, 1992.
- Harris, P.A. Preliminary investigations into factors that affect plasma aldosterone concentrations in horses. *Res. Vet. Sci.*, 54: 319-328, 1993.

- Harshfield, G.A. Alpert, B.S.; Pulliam, D.A. Renin angiotensin aldosterone system in healthy subjects aged ten to eighteen years. *J. Pediatr.*, 122(4): 563-567, 1993.
- Harvey, J.W.; Asquith, R.L.; Pate, M.G.; Kipivello, J.; Chen, C.L.; Ott, E.A. Haematological findings in pregnant, postparturient and nursing mares. *Comp. Hematol. Int.*, 4: 25-29, 1994.
- Harvey, J.W.; Pate, M.; Kivipelto, J.; Asquith, R. Clinical biochemistry of pregnant and nursing mares. *Vet. Clin. Pathol.*, 34(3): 248-254, 2005.
- Harvey, R.B.; Hambright, M.B.; Rowe, L.D. Clinical biochemical and hematologic values of the american miniature horse: reference values. *Am. J. Vet. Res.*, 45 (5): 97-101, 1984.
- Harvey, R.B.; Hambright, M.B. Normal serum chemistry and hematology values of the American miniature horse. *Equine Pract.*, 7: 6-8, 1985.
- Hassan, E.; Creatsas, G.; Mastorakos, G.; Michalakis, S. Clinical Implications of the ovarian/endometrial renin angiotensin aldosterone system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 900(1): 107-117, 2000.
- Hauss, E. Chronobiology of circulating blood cells and platelets. En: *Biologic Rhythms in Clinical and Laboratory Medicine*. Touitou, Y.; Hauss, E. (eds.) Springer-Verlag, Berlin, pp. 504-526, 1994.
- Hawk, H.W.; Bitman, J.; Cecil, H.; Wiltbank, J.N.; Bond, J.; Sykes, J.F. Effect of ovarian hormones on water and electrolytes in the cow uterus. *Am. J. Physiol.*, 200: 345-347, 1961.
- Hayashi, M.; Saruta, T.; Nakamura, R.; Kitajima, W.; Kato, E. Effect of aging on single nephron renin content in rats. *Renal Physiol.*, 4: 17-21, 1981.
- Hayduk, K.; Krause, D.; Kaufmann, W.; Huenges, R.; Schillmoller, U.; Unbehaun, V. Age dependent changes of plasma renin concentration in humans. *Clin. Sci. Mol. Med.*, 45: 273-278, 1973.
- He, F.J.; MacGregor, G.A. Salt, blood pressure and the renin angiotensin system. *J.R.A.A.S.*, 4: 11-16, 2003.
- Heap, R.B.; Hamon, M.; Allen, W.R. Studies on oestrogen synthesis by the preimplantation equine conceptus. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 32: 343-352, 1982.
- Heenan, A.P.; Wolfe, L.A.; Davies, G.A.; McGrath, M.J. Effects of human pregnancy on fluid regulation responses to short term exercise. *J. Appl. Physiol.*, 95: 2321-2327, 2003.
- Helmer, O.M.; Judson, W.E. Influence of high renin substrate levels on renin angiotensin system in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 99: 9-17, 1967.
- Henderson, K.; Stevens, S.; Hall, C.; Stewart, J.; Wards, R. 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, 1998.
- Henderson, K.; Stewart, J. A dipstick immunoassay to rapidly measure serum oestrone sulfate concentrations in horses. *Reprod. Fertil. Dev.*, 12(3-4): 183-189, 2000.
- Henderson, K.; Eayrs, K. Pregnancy status determination in mares using a rapid lateral flow test for measuring serum oestrone sulphate. *N. Z. Vet. J.*, 52(4): 193-196, 2004.
- Henrion, D.; Kubis, N.; Lévy, B.I. Physiological and pathophysiological functions of the AT2 subtype receptor of angiotensin II from large arteries to the microcirculation. *Hypertension*, 38: 1150-1157, 2001.
- Herak, M.; Herak, M.; Sukalic, M.; Tomaskovic, A.; Premzl, B. Promjene kalcija, fosfora i ukupnih bjelancevina u krvi kobila tijekom graviditeta. *Znan. Prakt. Poljop. Tehnol.*, 24: 209-214, 1994.
- Heymes, C.; Silvestre, J.S.; Llorens-Cortes, C.; Chevalier, B.; Marotte, F.; Levy, B.I.; Swynghedauw, B.; Samuel, J.L. Cardiac senescence is associated with enhanced expression of angiotensin II receptor subtypes. *Endocrinol.*, 139: 2579-2587, 1998.
- Hillyer, M.H.; Taylor, F.G.R.; Mair, T.S.; Murphy, D.; Watson, T.D.G.; Love, S. Diagnosis of hyperadrenocorticism in the horse. *Equine Vet. Educ.*, 4: 131-134, 1992.
- Hinckley, K.A.; Fearn, S.; Howard, B.R.; Henderson, I.W. Nitric oxide donors as treatment for grass induced acute laminitis in ponies. *Equine Vet. J.*, 28: 17-28, 1996.
- Hiner, L.B.; Gruskin, A.B.; Baluarte, H.J.; Cote, M.L. Plasma renin activity in normal children. *J. Pediatr.*, 89: 258-261, 1976.
- Hirshberg, B.; Ben-Yehuda, A. The syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion in the elderly. *Am. J. Med.*, 103: 270-273, 1997.
- Hodari, A.A. The contribution of the fetal kidney to experimental hypertensive disease of pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 101: 17-22, 1968.
- Hoffman, R.M.; Kronfeld, D.S.; Cooper, W.L.; Harris, P.A. Glucose clearance in grazing mares is affected by diet, pregnancy, and lactation. *Anim. Sci.*, 81: 1764-1771, 2003.
- Hoffsis, G.F.; Murdik, P.W.; Tharp, V.L.; Ault, K. Plasma concentrations of cortisol and corticosterone in the normal horse. *Am. J. Vet. Res.*, 31: 1379-1387, 1970.
- Holtan, D.W.; Nett, T. M.; Estergreen, V.L. Plasma progesterone in pregnant postpartum and cycling mares. *J. Anim. Sci.*, 40: 251-260, 1975.
- Holtan, D.W.; Squires, E.L.; Lapin, D.R.; Ginther, O.J. Effect of ovariectomy on pregnancy in mares. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 27: 457-463, 1979.



- Holtan, D.W.; Houghton, E.; Silver, M. Plasma progestagens in the mare, fetus and newborn. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 44: 517-528, 1991.
- Hood, D.M.; Grosenbaugh, D.A.; Mostafa, M.B.; Morgan, S.J.; Thomas, B.C. The role of vascular mechanisms in the development of acute equine laminitis. *J. Vet. Intern. Med.*, 7: 228-234, 1993.
- Horohov, D.W.; Dimock, A.N.; Guirnalda, P.D.; Folsom, R.W.; McKeever, K.H.; Malinowski, K. Effect of exercise on the immune response of young and old horses. *Am. J. Vet. Res.*, 60(5): 643-647, 1999.
- Horton, G.M.J. Lamb production, feed utilisation, and hematologic and blood chemical changes in sheep exposed to cold. *Am. J. Vet. Res.*, 39: 1845-1849, 1978.
- Howell-Fulton. Physiology and biophysics. En: *Digestion, Metabolism, Endocrine Function and Reproduction*, vol. 3. Ruch, T.C.; Patton, H.D. (eds.) Saunders Company. Philadelphia, pp. 324-327, 1973.
- Hsueh, W.A.; Luetscher, J.A.; Carlson, E.J.; Grislis, F.; Frazee, E.; McHargue, A. Changes in active and inactive renin throughout pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54: 1010-1016, 1982.
- Hytten, F.E.; Paintin, D.B. Increase in plasma volume during normal pregnancy. *J. Obstet. Gynaecol. Br. Comm.*, 70: 402-407, 1963.
- Hytten, F.E.; Leitch, I. The volume and composition of the blood. En: *Physiology of Human Pregnancy*. 2<sup>nd</sup> ed. Hytten, F.E.; Leitch, I. (eds.) Blackwell Scientific Publications. Oxford, pp. 1-43, 1971.
- Hytten, F.E.; Lind, T. Indices of cardiovascular function. En: *Diagnostic Indices in Pregnancy*. Hytten F.E.; Lind, T. (eds.) Documenta Geigy, Basel, 1973.
- Hytten, F. Blood volume changes in normal pregnancy. *Clin. Haematol.*, 14: 601-612, 1985.
- Ibarra-Rubio, M.E.; Peña, J.C.; Pedraza-Chaverri, J. Kinetic and inhibitory characteristics of serum angiotensin converting enzyme from nine mammalian species. *Comp. Biochem. Physiol.*, 92: 399-403, 1989.
- Illera, J.C.; Silván, G.; Illera, M.J.; Illera, M. Sulfato de estrona: viabilidad y sexaje fetal. II Congresso Ibérico de Reprodução Animal. Oporto (Portugal), 2001.
- Irvine, C.H.G. The blood picture in the racehorse. I. The normal erythrocyte and hemoglobin status: a dynamic concept. *J. Am. Med. Assoc.*, 133: 97-101, 1958.
- Irvine, C.H.G.; Alexander, S.L. Measurement of free cortisol and the capacity and association constant of cortisol binding proteins in plasma of foals and adult horses. *J. Reprod. Fert.*, 35: 19-24, 1987.
- Irvine, C.H.G.; Alexander, S.L. Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 11: 227-238, 1994.
- Israel, A.; Peceño, A. Renin angiotensin aldosterone system in pregnancy induced hypertension. *J. Human Hypertens.*, 14(1): 36-39, 2000.
- Itskovitz, J.; Sealey, J.E.; Glorioso, N.; Rosenwaks, Z. Plasma prorenin response to human chorionic gonadotropin in ovarian hyperstimulated women: correlation with the number of ovarian follicles and steroid hormone concentrations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 84(20): 7285-7289, 1987.
- Jain, N.C. The horse. Normal haematologic with comments on response to disease. En: *Schalm's Veterinary Hematology*. 4<sup>th</sup> ed. Jain N.C. (ed.) Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 140-177, 1986.
- Jain, N.C. Comparative hematology of common domestic animals. En: *Essentials of Veterinary Hematology*. 1<sup>st</sup> ed. Jain N.C. (ed.) Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 19-53, 1993.
- James, V.H.R.; Horner, M.W.; Moss, M.S.; Rippon, A.E. Adrenocortical function in the horse. *J. Endocrinology*, 48: 319-335, 1970.
- Jansson, A.; Lindholm, A.; Dahlborn, K. Effects of acute intravenous aldosterone administration on Na, K, and water excretion in the horse. *J. Appl. Physiol.*, 92: 135-141, 2002.
- Jeffay, H.; Winzler, R.J. The metabolism of serum proteins. II. The effect of dietary protein on the turnover of rat serum protein. *J. Biol. Chem.*, 231(1): 111-116, 1958.
- Jeffcott, L.B. Haematology in relation to performance and potential. 2. Some specific aspects. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 45: 279-286, 1974.
- Jeffcott, L.B. Clinical haematology of the horse. En: *Comparative Clinical Haematology*. R.K. Archer y L.B. Jeffcott (eds.). Blackwell Scientific Publications, pp. 161-213, 1977.
- Jensen, E.; Wood, C.H.; Keller-Wood, M. The normal increase in adrenal secretion during pregnancy contributes to maternal volume expansion and fetal homeostasis. *J. Soc. Gynaecol. Investig.*, 9(6): 362-371, 2002.
- Jepson, J.H. Endocrine control of maternal and foetal erythropoiesis. *Can. Med. Assoc. J.*, 98: 844-847, 1968.
- Jespersen, C.M.; Arnung, K.; Hagen, C.; Hilden, T.; Nielsen, F.; Nielsen, M.D.; Giese, J. Effects of natural oestrogen therapy on blood pressure and renin angiotensin system in normotensive and hypertensive menopausal women. *J. Hypertens.*, 1: 361-364, 1983.
- Jeyabalan, A.; Conrad, K.P. Renal function during normal pregnancy and preeclampsia. *Front. Biosci.*, 1(12): 2425-2437, 2007.
- Johnson, M.R.; Brooks, A.A.; Steer, P.J. The role of relaxin in the pregnancy associated reduction in plasma osmolality. *Human Reprod.*, 11(5): 1105-1108, 1996.

- Jones, K.M.; Lloyd-Jones, R.; Riodel, A.; Tait, J.F.; Tait, S.A.S.; Bulbrook, R.D.; Greenwood, F.C. Aldosterone secretion and metabolism in normal men and women and in pregnancy. *Acta Endocrinol.*, 30: 321-342, 1959.
- Jovanovic-Peterson, L.; Peterson, C.M. Endocrine disorders in pregnancy. *Endocrinol. Metabol. Clinics North Amer.*, 24(1): 103-138, 1995.
- Jover, B.; Dupont, M.; Geelen, G.; Wahba, W.; Mimran, A.; Corman, B. Renal and systemic adaptation to sodium restriction in aging rats. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.*, 264: 833-838, 1993.
- Judson, G.J.; Frauenfelder, H.C.; Mooney, G.J. Plasma biochemical values in thoroughbred racehorses following submaximal and maximal exercise. En: *Equine Exercise Physiology*. Snow, D.H.; Persson, S.G.B.; Rose, R.J. (eds.) Granta editions, Cambridge, pp. 408-415, 1983, a.
- Judson, G.J.; Mooney, G.J.; Thornbury, R. Plasma biochemical values in thoroughbred horses in training. En: *Equine Exercise Physiology*. Snow, D.H., Persson, S.G.B. y Rose, R.J. (eds.). Granta editions, Cambridge, pp. 354-361, 1983, b.
- Jung, F.F.; Kenefick, T.M.; Ingelfinger, J.R.; Vora, J.P.; Anderson, S. Downregulation of the intrarenal renin angiotensin system in the aging rat. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 5: 1573-1580, 1995.
- Junkermann, H.; Mangold, H.; Vecsei, P.; Runnebaum, B. Circadian rhythm of serum progesterone levels in human pregnancy and its regulation to the rhythm of cortisol. *Acta Endocrinol.*, 101: 98-104, 1982.
- Kalenga, M. K.; Thomas, K.; De Gasparo, M.; De Hertogh, R. Determination of renin, angiotensin converting enzyme and angiotensin II levels in human placenta, corion and amnion from women with pregnancy induced hypertension. *Clin. Endocrinol.*, 44(4): 429-433, 1996.
- Kalhan, S.C. Protein metabolism in pregnancy. *Am. J. Clin. Nutr.*, 71(5): 1249-1255, 2000.
- Kaneko, J. Serum proteins and the dysproteinemias. En: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5<sup>a</sup> ed. Kaneko, J.; Harvey, J.W.; Bruss, M.L. (eds.) Academic Press, pp. 117-137, 1997.
- Kanitz, W.; Scheider, F.; Hoppen, H.O.; Unger, C.; Nurnberg, G.; Becker, F. Pregnancy rates, LH and progesterone concentrations in mares treated with a GnRH agonist. *Anim. Reprod. Sci.*, 97 (1-2): 55-62, 2007.
- Kaplan, H.R.; Cohen, D.M.; Essenburg, A.D.; Major, T.C.; Mertz, T.E.; Ryan, M.H. New orally active nonsulfhydryl angiotensin converting enzyme inhibitors. *FASEB: Federation Proc.*, 43: 1326-1329, 1984.
- Kasman, L.H.; Hughes, J.P.; Stabenfeldt, G.H.; Starr, M.D.; Lasley, B.L. Estrone sulfate concentrations as an indicator of fetal demise in horses. *Am. J. Vet. Res.*, 49(2): 184-187, 1988.
- Kastner, E.; Feige, M.; Weishaupt, M.; Auer, J. Heart rate and hematological responses of Quarter Horses to a reining competition. *J. Equine Sci.*, 19: 127-131, 1999.
- Kathleen, E.; Borcharding, M.S.; Patsy, L.; Ruchala, R.N. Maternal hyponatremia. Prevention and assessment are key for managing this rare but potentially devastating condition. *AWHONN Lifelines*, 6(6): 514-519, 2002.
- Kato, H.; Ishida, J.; Imagawa, S.; Saito, T.; Suzuki, N.; Matsuoka, T.; Sugaya, T.; Tanimoto, K.; Yokoo, T.; Ohneda, O.; Sugiyama, F.; Yagami, K.; Fujita, T.; Yamamoto, M.; Nangaku, M.; Fukamizu, A. Enhanced erythropoiesis mediated by activation of the renin angiotensin system via angiotensin II type 1a receptor. *FASEB J.* 19: 2023-2025, 2005.
- Katugampola, S.D.; Davenport, A.P. Radioligand binding reveals chymase as the predominant enzyme for mediating tissue conversion of angiotensin I in the normal human heart. *Clin. Sci.*, 102: 15-21, 2002.
- Katz, F.; Beck, P.; Makowski, E. The renin aldosterone system in mother and fetus at term. Fetus, placenta and newborn. *Am. J. Obstet. Gynaecol.*, 118(1): 51-55, 1973.
- Katz, S.A.; Marvin, R.I. Renin secretion, control, pathwats and glycosylation. En: *The Renin Angiotensin System*. Nicholls, M.G.; Robertson, J.I.S. (eds.) Gower Medical Publishing, London, pp. 1-13, 1993.
- Kau, M.M.; Lo, M.J.; Tsai, S.C.; Chen, J.J.; Lu, C.C.; Lin, H.; Wang, S.W.; Wang, S.W.; Wang, P.S. Effect of estradiol on aldosterone secretion in ovariectomized rate. *J. Cell. Biochem.*, 73: 137-144, 1999.
- Kedzierski, W.; Bergero, D. Comparison of plasma biochemical parameters in Thoroughbred and Purebred Arabian horses during the same-intensity exercise. *Pol. J. Vet. Sci.*, 9(4): 233-238, 2006.
- Kerr, M.G.; Snow, D.H. Alterations in haematocrit, plasma proteins and electrolytes in horses following the feeding of hay. *Vet. Rec.*, 110: 538-540, 1982.
- Khasla, M.C.; Smeby, R.R.; Bumpus, F.M. Structure activity relationship of angiotensin II analogs. En: *Angiotensin*. Page, I.H.; Bumpus, F.M. (eds.) Springer-Verlag, Berlin, pp. 126, 1974.
- Khraibi, A.A.; Ramsey, C.R.; Heublein, D.M.; Berndt, T.J.; Knox, F.G. Role of plasma renin activity and the renal nerves in the natriuresis of L-NMMA infusion in rats. *Life Sci.*, 69(10): 1123-1131, 2001.
- Khraibi, A.A.; Dobrian, A.D.; Yu, T.; Solhaug, M.J.; Billiar, R.B. Role of RIHP and renal tubular sodium

- transporters in volume retention of pregnant rats. *Am. J. Hypertens.*, 18(10): 1375-1383, 2005.
- Kim, J.C. Haematological changes during normal pregnancy in New Zealand white rabbits: a longitudinal study. *Comp. Clin. Pathol.*, 11: 98-106, 2002.
- Kindahl, H.; Knudsen, O.; Madej, A.; Edqvist, L.E. Progesterone, prostaglandin F-2 $\alpha$ , PMSG and oestrone sulphate during early pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 32: 353-359; 1982.
- Kline, K.; Foreman, J. Heart and spleen weights as a function of breed and somatotype. En: *Equine Exercise Physiology* vol. 3. Persson, S.G.B., Lindholm, A., Jeffcott, L.B. (eds.) ICEEP Publications, Davis, CA, pp. 17-31, 1991.
- Knill, L.M. Mcconaughey, C.; Camarena, I.; Day, M. Hemogram of the arabian horse. *Am. J. Vet. Res.*, 2(30): 295-298, 1969.
- Knottenbelt, D.C.; Holdstock, N.; Madigan, J.E. *Equine neonatology. Medicine and surgery.* Saunders Elsevier. China, pp. 476, 2004.
- Kobori, H.; Nangaku, M.; Navar, L.G.; Nishiyama, A. The intrarenal renin angiotensin system: from the physiology to the pathobiology of the hipertensión and kidney disease. *Pharmacol. Rev.*, 59(3): 251-287, 2007.
- Koets, A.P. The equine endometrial cup reaction: a review. *Vet. Quart.*, 17: 21-29, 1995.
- Kojima, I.; Kojima, K.; Rasmussen, H. Effects on ang II and K on calcium efflux and aldosterone production in adrenal glomerulosa cells. *Am. J. Physiol.*, 248: 36-43, 1985, a.
- Kojima, I.; Kojima, K.; Rasmussen, H. Role of calcium fluxes in the sustained phase of angiotensin II mediated aldosterone secretion from adrenal glomerulosa cells. *J. Biol. Chem.*, 260: 9177-9184, 1985, b.
- Krajnicáková, M.; Bekeová, E.; Maracek, I.; Hendrichovský, V. Levels of sodium and potassium and their relation to ovarian hormones during estrus synchronization and pregnancy in ewes. *Vet. Med. (Praha)*, 39(9): 541-550, 1994.
- Krämer, C. Diversas consideraciones sobre la angiotensina II. *Rev. Nefrol. Dial. Transp.*, 24(1): 207-219, 2004.
- Kubota, K.; Shirakura, T.; Orui, T.; Muratani, M.; Maki, T.; Tamura, J.; Morita, T. Changes in the blood cell counts with aging. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi*, 28(4): 509-514, 1991.
- Kumar, D.; Feltham, L.A.W.; Gornall, A.G. Aldosterone excretion and tissue electrolytes in normal pregnancy and preeclampsia. *Lancet*, 1: 541-545, 1959.
- Kumral, A.; Duman, N.; Tatil, M.M.; Ozbek, A.; Demircioglu, F.; Oszkan, H. Hypernatraemic dehydration due to high sodium concentrations in breast milk: possible relationship with unwanted pregnancy. *Acta Padiatr.*, 91(11): 1268-1269, 2002.
- Kurosawa, M.; Nagata, S.; Takeda, F.; Mima, K.; Hiraga, A.; Kai, M y Taya, K. Plasma catecholamine, adrenocorticotropin and cortisol responses to exhaustive incremental treadmill exercise of the thoroughbred horse. *J. Equine Sci.*, 9(1): 9-18, 1998.
- LaBorde, J.B.; Wall, K.S.; Bolon, B. Haematology and serum chemistry parameters of the pregnant rat. *Lab. Anim.*, 33: 275-287, 1999.
- Lacerda, L.; Campos, R.; Sperb, M.; Soares, E.; Barbosa, P.; Godinho, E.; Ferreira, R.; Santos, V.; González, F.D. Hematologic and biochemical parameters in three high performance horse breeds from Southern Brazil. *Arch. Vet. Sci.*, 11( 2): 40-44, 2006.
- Laidlaw, J.C.; Cohen, M.; Gornall, A.G. Studies on the origin of aldosterone during human pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 18: 222-225, 1958.
- Landau, R.L.; Bergenstal, D.M.; Lugibihl, K.; Kascht, M.E. The metabolic effects of progesterone in man. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 15(10): 1194-1215, 1955.
- Landau, R.L.; Lugibihl, K.; Bergenstal, D.M.; Dimick, D.F. The metabolic effects of progesterone in man: dose response relationship. *J. Lab. Clin. Med.*, 50(4): 613-620, 1957.
- Landau, R.L.; Lugibihl, K. Inhibition of the sodium retaining influence of aldosterone by progesterone. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 18(11): 1237-1245, 1958.
- Langer, B.; Grima, M.; Coquard, C.; Bader, A.M.; Schlaeder, G.; Imbs, J.L. Plasma active renin, angiotensin I, and angiotensin II during pregnancy and in preeclampsia. *J. Obstet. Gynecol.*, 91: 196-202, 1998.
- Laragh, J.H.; Sealey, J.E. The renin angiotensin-aldosterone system and the renal regulation of sodium, potassium, and blood pressure homeostasis. En: *Handbook of Physiology.* Windhager, E.E. (ed.) Oxford: Oxford University Press, pp. 1409-1541, 1992.
- Larsson, M.; Edqvist, L.E.; Ekma, L.; Persson, S. Plasma cortisol in the horse, diurnal rhythm and effects of exogenous ACTH. *Acta Vet. Scand.*, 20: 16-24, 1979.
- Lassen, E.D.; Swardson, C.J. Hematology and hemostasis in the horse: normal functions and common abnormalities. En: *Clinical Pathology.* Messer, N.T. (ed.) *Vet. Clinics North Am.: Equine Pract.*, 11: 351-389, 1995.
- Lassourd, V.; Gayrard, V.; Laroute, M.; Alvinerie, P.; Benard, D.; Courtot, Toutain, P.L. Cortisol disposition and production rate in horses during rest and exercise. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Com. Physiol.*, 271: 25-33, 1996.

- Latimer, K.S.; Rakich, P.M. Peripheral blood smears. En: *Cytology and Hematology of the Horse*. Cowell, R.L.; Tyler, R.D. (eds.) American Veterinary Publications, Inc. Goleta, California, pp. 191-235, 1992.
- Laursen, J.B.; Rajagopalan, S.; Galis, Z.; Tarpey, M.; Freeman, B.A.; Harrison, D.G. Role of superoxide in angiotensin II induced but not catecholamine induced hypertension. *Circulation*, 95: 588-593, 1997.
- LeBlanc, M.M. Diseases of the reproductive system: The mare. En: *Equine Medicine and Surgery*. 4<sup>th</sup> ed. Colahan, P., Mayhew, I., Merrit, A., Moore, J. (eds.) California, USA, pp. 949-1082, 1991.
- Ledoux, F.; Genest, J.; Nowaczynski, W. Plasma progesterone and aldosterone in pregnancy. *J. Can. Med. Assoc.*, 112(8): 943-947, 1975.
- Lenz, T.; James, G.D.; Laragh, J.H.; Sealey, J.E. Prorenin secretion from human placenta perfused in vitro. *Am. J. Physiol.*, 260: 876-882, 1991.
- Leturque, A.; Hauguel, S.; Ferré, P.; Girard, J. Glucose metabolism in pregnancy. *Biol. Neonate*, 51(2): 64-69, 1987.
- Leung, K.H.; Chang, R.S.; Lotti, V.J.; Roscoe, W.A.; Smith, R.D.; Timmermans P.B.; Chiu, A.T. AT1 receptors mediate the release of prostaglandins in porcine smooth muscle cells and rat astrocytes. *Am. J. Hypertens.*, 5(9): 648-656, 1992.
- Levens, N. Control of intestinal absorption by the renin angiotensin system. *Am. J. Physiol.*, 249: 3-15, 1985.
- Lever, A.F. The vasa recta and countercurrent multiplication. *Acta Med. Scand. Suppl.*, 434: 1-43, 1965.
- Lever, A.F. The fast and the slowly developing pressor effect of angiotensin II. En: *The Renin Angiotensin System*. Robertson, J.I.S.; Nicholls, M.G. (eds.) London, UK. Gower Medical Publishing, pp. 1-9, 1993.
- Lichten, I.J. Salt saving in the pregnant rat. *Amer. J. Physiol.*, 201: 765-768, 1961.
- Lima, S.B.; Verreschi, I.T.; Ribeiro Neto, L.M. Reversed-phase liquid chromatographic method for estrogen determination in equine biological samples. *J. Chromatogr. Sci.*, 39(9): 385-389, 2001.
- Lindheimer, M.D.; Katz, A.I. The renal response to pregnancy. En: *Kidney*. Brenner, B.M.; Rector, F.C. (eds.). Philadelphia, Saunders, pp. 1762-1815, 1981.
- Lindheimer, M.D.; Katz, A.I. Renal physiology and disease in pregnancy. En: *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*. Seldin, D.W.; Giebisch, G. (eds.) New York. Raven, pp. 3371-3432, 1992.
- Lindheimer, M.D.; Richardson, D.A.; Ehrlich, E.N.; Katz, A.I. Potassium homeostasis in pregnancy. *J. Reprod. Med.*, 32(7): 517-522, 1987.
- Lindner, A.; Will, Y.; Chrispeels, J. Reference values for cortisol, T4 and T uptake in different horse groups using the fluorescence polarization immunoassay (FPIAs). *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 103(12): 411-416, 1990.
- Lindner, A.; Birks, E.K. Collection of venous blood samples from competition horses: a new approach. *Equine Vet. J.*, 26 (6): 503-505, 1994.
- Lindpaintner, K.; Jin, M.; Wilhem, M.; Suzuki, F.; Linz, W.; Schoelkens, B.; Ganten, D. Intracardiac generation of angiotensin and its physiological role. *Circulation*, 77(1): 18-23, 1988.
- Little, B. Water and electrolyte balance during pregnancy. *Anesthesiology*, 26: 400-408, 1965.
- Longo, L.D. Maternal blood volume and cardiac output during pregnancy: a hypothesis of endocrinologic control. *Am. J. Physiol.*, 245: 720-729, 1983.
- Love, S. Equine Cushing's disease. *Br. Vet. J.*, 149(2): 139-153, 1993.
- Lowseth, L.; Gillet, N.; Gerlach, R.; Muggenburg, B. The effects of aging on hematology and serum chemistry values in the beagle dog. *Vet. Clin. Pathol.*, 19(1): 13-19, 1990.
- Lubas, G.; Casini, L.; Greppi, G.F.; Gavazza, A. Investigation on circadian rhythm of hemogram values in horses. *Ippologia*, 6 (2): 23-33, 1996.
- Luciani, A.; Civitella, C.; Santori, D.; Sconza, S.; Guglielmini, C. Haemodynamic effects in healthy horses treated with an ACE-inhibitor (Ramipril). *Vet. Res. Commun.*, 31(1): 297-299, 2007
- Lucius, H.; Gahlenbeck, H.; Kleine, H.O.; Fabel, H.; Bartels, H. Respiratory functions, buffer system and electrolyte concentrations of blood during human pregnancy. *Respir. Physiol.* 9(3): 311-317, 1970.
- Luckey, A.E.; Parsa, C.J. Fluid and electrolytes in the aged. *Arch. Surg.*, 138: 1055-1060, 2003.
- Lumsden, J.H.; Rowe, R.; Mullen, K. Hematology and biochemistry reference values for the light horse. *Can. J. Comp. Med.*, 44(1): 32-42, 1980.
- Lurie, S. Changes in age distribution of erythrocytes during pregnancy: a longitudinal study. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 36(3): 141-144, 1993.
- MacDonald, H.N.; Good, W. Changes in plasma sodium, potassium and chloride concentrations in pregnancy and the puerperium, with plasma and serum osmolality. *Int. J. Obstet. Gynaecol.*, 78(9): 798-803, 1971.
- MacDonald, H.N.; Good, W. The effect of parity on plasma sodium, potassium, chloride and osmolality levels during pregnancy. *Int. J. Obstet. Gynaecol.*, 79(5): 441-449, 1972.
- MacGillivray, I.; Buchanan, T.J. Total exchangeable sodium and potassium in non pregnant women and in normal and preeclamptic pregnancy. *Lancet*, 2(7056): 1090-1093, 1958.

- MacGillivray, I. Water and electrolyte changes in normal and preeclamptic pregnancies. En: *Water and Electrolyte Metabolism*. Stewart, C.P.; Strongers, T. (eds.) Amsterdam, Elsevier Publishing Co, pp. 124-130, 1961.
- Machado-Neto, R.; Graves, C.N.; Curtis, S.E. Immunoglobulins in piglets from sows heat stressed prepartum, *J. Anim. Sc.*, 65: 445-455, 1987.
- Macías, J.E.; Cameron, J.S. Renal function in the elderly. En: *Oxford textbook of Clinical Nephrology*. Cameron, J.S.; Davidson, A.M.; Grinfeld, J.P.; Kerr, D.; Ritz, E. (eds.) Oxford, Oxford University Press, pp. 56-69, 1992.
- Maebashi, M.; Aida, M.; Yoshinaga, K.; Abe, K.; Miwa, I.; Watanabe, N. Estimation of circulating renin in normal and toxemic pregnancy. *Tohoku. J. Exp. Med.*, 84: 55-61, 1964.
- Mahaney, J.; Felton, C.; Taylor, D.; Fleming, W.; Kong, J.Q.; Baylis, C. Renal cortical Na-K-ATPase activity and abundance is decreased in normal pregnant rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 275: 812-817, 1998.
- Manso, M.; Aguilera, E.; Estepa, J.C.; Martínez, J.; Mayer, R. Valores hematológicos en yeguas puerperales y potros neonatos Pura Raza Española y Árabe. *Med. Vet.*, 15(6): 353-355, 1998.
- Marbach, W. Haematological parameters of the fitness of racehorses and the effect of Coforta/Catosal on the fatigued horse. *Vet. Med. Rev.*, 1: 82-92, 1978.
- Maremoto, S. Glia and neuron specific expression of the renin angiotensin system in brain alters blood pressure, water intake, and salt preference. *J. Biol. Chem.*, 277: 33235-33241, 2002.
- Martin, H.; Langenhan, K.; Huth, M.; Sauer, I.; Weisbrich, C. Clinical laboratory diagnosis and aging. 3. Evaluation of a study of aging complete blood and urine status. *Z. Gerontol. Geriatr.*, 34(3): 183-191, 2001.
- Martin, P.A.; Crump, M.H. The adrenal gland. En: *McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction*. Pineda, M.H.; Dooley, M.P. (eds.) 5<sup>a</sup> ed. Ames, IA. Iowa State Press, pp. 165-200, 2003.
- Martin, J.D.; Mills, L.H. Aldosterone excretion in normal and toxemic pregnancies. *Br. Med. J.*, 2: 571-573, 1956.
- Martin, M.C.; Hoffman, P.G. The endocrinology of pregnancy. En: *Basic and Clinical Endocrinology*. Greenspan, F.S.; Farsham, P.H. (eds.) California, Lange Med. Publ., 1983.
- Martínez, R.; Godoy, A.; Naretto, E.; White, A. Neuroendocrine changes produced by competition stress on the thoroughbred race horse. *Comp. Biochem. Physiol.*, 91: 599-602, 1988.
- Martínez, R.; Scaglione, M.C.; Luneburg, C.; Hernández, E.; Araneda, O. Cambios sanguíneos y sudorales en equinos sometidos a carreras de resistencia. *Av. Ciencias Vet.*, 16: 58-67, 2001.
- Marunaka, Y. Hormonal and osmotic regulation of NaCl transport in renal distal nephron epithelium. *Jpn. J. Physiol.*, 47(6): 499-511, 1997.
- Mason, D.K.; Kwok, H.W. Some haematological and biochemical parameters in race horses in Hong Kong. *Equine Vet. J.*, 9(2): 96-99, 1977.
- Masri, J.; Freestone, J.F.; Wolfsteimer, K.J.; Shoemaker, K. Alterations in plasma volume, plasma constituents, renin activity and aldosterone induced by maximal exercise in the horse. *Equine Vet. J. Suppl.*, 9: 72-77, 1990.
- Matsuoka, H.; Mulrow, P.J.; Franco-Sáenz, R.; Li, CH. Effect of b-Lipotropin and b-Lipotropin derived peptides on aldosterone production in the rat adrenal gland. *J. Clin. Invest.*, 68: 752-759, 1981.
- Matthews, J.H.; Clark, D.M.; Abrahamson, G.M. Effect of therapy with vitamin B12 and folic acid on elderly patients with low concentrations of serum vitamin B12 or erythrocyte folate but normal blood counts. *Acta Haematol.*, 79: 84-87, 1988.
- Mattison, D.R.; Blann, E.; Malek, A. Physiological alterations during pregnancy: Impact on toxicokinetics. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 16(2): 215-218, 1991.
- Mbassa, G.K.; Poulsen, J.S. Influence of pregnancy, lactation and environment on haematological profiles in Danish landrace dairy goats (*Capra hircus*) of different parity. *Comp. Biochem. Physiol.*, 100(2): 403-412, 1991.
- McCance, D.R.; McKnight, J.A.; Traub, A.I.; Sheridan, B.; Roberts, G.; Atkinson, A.B. Plasma atrial natriuretic factor levels during normal pregnancy and pregnancy complicated by diabetes mellitus and hypertension. *J. Hum. Hypertens.*, 4(1): 31-35, 1990.
- McConaghy, F. Thermoregulation. En: *The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine*. Hodgson, D.R.; Rose, R.J. (eds.) WB Saunders Co, Philadelphia, USA, pp. 181-204, 1994.
- McConaghy, F.F.; Hodgson, D.R.; Evans, D.L.; Rose, R.J. Equine sweat composition: effects of adrenaline infusion, exercise and training. *Equine Vet. J. Suppl.*, 20: 158-164, 1995.
- McDonald, J.E.; Padmanabhan, N.; Petrie, M.C.; Hillier, C.; Connell, J.M.; McMurray, J.J. Vasoconstrictor effect of the angiotensin converting enzyme resistant, chymase specific substrate angiotensin I in human dorsal hand veins: in vivo demonstration of non ace production of angiotensin II in humans. *Circulation*, 104(15): 1805-1808, 2001.
- McEwan, P.C.; Lindop, G.B.; Kenyon, C.J. Control of cell proliferation in the rat adrenal gland in vivo by the renin angiotensin system. *Am. J. Physiol.*, 34: 192-198, 1996.

- McFarlane, D.; Sellon, D.C.; Gaffney, D.; Hedgpeth, V.; Papich, M.; Gibbs, S. Hematologic and serum biochemical variables and plasma corticotropin concentration in healthy aged horses. *Am. J. Vet. Res.*, 59: 1247-1251, 1998.
- McFarlane, D.; Sellon, D.; Gibbs, S. Age related quantitative alterations in lymphocyte subsets and immunoglobulin isotypes in healthy horses. *Am. J. Vet. Res.*, 62 (9): 1413-1417, 2001.
- McKeever, KH. The endocrine system and the challenge of exercise. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 18: 321-353, 2002.
- McKeever, K.H.; Gordon, M.B. Endocrine alterations in the equine athlete. En: *Equine Sports Medicine and Surgery. Basic and clinical sciences of the equine athlete.* Hinchcliff, K.W.; Kaneps, A.J.; Geor, R.J. (eds.) WB Saunders Co, Philadelphia, USA, pp. 798-814, 2004.
- McKeever, KH; Hinchcliff, KW. Neuroendocrine control of blood volume, blood pressure, and cardiovascular function in horses. *Equine Vet. J.*, 18: 77-81, 1995.
- McKeever, K.H.; Hinchcliff, K.W.; Schmall, L.M.; Muir, W.W. Renal tubular function in horses during submaximal exercise. *Am. J. Physiol.*, 261(3): 553-560, 1991.
- McKeever, K.H.; Hinchcliff, K.W.; Schmall, L.M.; Reed, S.M.; Lamb, D.R.; Muir III, W. Changes in plasma renin activity, aldosterone, and vasopressin during incremental exercise in horses. *Am. J. Vet. Res.*, 53: 1290-1293, 1992
- McKeever, K.H.; Hinchcliff, K.W.; Reed, S.M.; Robertin, J. T. Role of decreased plasma volume in haematocrit alterations during incremental treadmill exercise in horses. *Am. J. Physiol.*, 265: 404-408, 1993.
- McKeever, K.H.; Malinowski, K. Endocrine response to exercise in young and old horses. *Equine Vet. J. Suppl.*, 30: 561-566, 1999.
- McKeever, K.H.; Scali, R.; Geiser, S.; Kearns, C.F. Plasma aldosterone concentration and renal sodium excretion are altered during the first days of training. *Equine Vet. J. Suppl.*, 34: 524-531, 2002.
- McKenna, B.; Lambert, M.; Evans, J.A. A study of  $\beta$ -endorphin and cortisol levels in the exercising horse. *Proc. A.E.S.M.*, pp. 39-43, 1993.
- McKenzie, J.K.; Lee, M.R.; Cook, W.F. Effect of haemorrhage on arterial plasma renin activity in the rabbit. *Circul. Res.*, 19: 269-273, 1966.
- McKenzie, J.K.; Ryan, J.W.; Lee, M.R. Effect of laparotomy on plasma renin activity in the rabbit. *Nature, Lond.*, 215: 542-543, 1967.
- McKnight, J.A.; Roberts, G.; Sheridan, B.; Atkinson, A.B. The effect of low and high sodium diets on plasma atrial natriuretic factor, the renin aldosterone system and blood pressure in subjects with essential hypertension. *Clin. Endocrinol.*, 40: 73-77, 1994.
- McLeod, J.; Ponder, E. The blood picture of the thoroughbred horse. *Science*, 103: 73, 1946.
- McMullin, M.F.; White, R.; Lappin, T.; Reeves, J.; Mackenzie, G. Haemoglobin during pregnancy: relationship to erythropoietin and haematinic stats. *Eur. J. Haematol.*, 71: 44-50, 2003.
- Metcalf, J.; Stock, M.K.; Barron, D.H. Maternal physiology during gestation. En: *The Physiology of Reproduction.* Knobil, E.; Neill, J.D. (eds.). New York, Raven Press, pp. 2145, 1988.
- Menard, J.; Catt, K.J. Effects of estrogen treatment on plasma renin parameters in the rat. *Endocrinology*, 92(5): 1382-1388, 1973.
- Messer, N.T. The use of laboratory test in equine practice. *Vet. Clinics North Am. Equine Pract.*, 11: 345-350, 1995.
- Michaux, J.M.; Giraud, C.; Francois, B.; Demonceau, T. Interet de la mesure de l'aldosteronemie dans l'exploration de l'equilibre hydro-electrolyte du cheval. Quoi de neuf en matiere d'etudes et de recherches sur le cheval ? CEREOPA, Paris, Francia, pp. 122-124, 1987.
- Michel, J.B.; Heudes, D.; Michel, O.; Poitevin, P.; Philippe, M.; Scalbert, E.; Corman, B.; Levy, B. Effect of chronic ang I converting enzyme inhibition on aging processes. II. Large arteries. *Am. J. Physiol. Regulat. Integr. Comp. Physiol.*, 267: 124-135, 1994.
- Migeon, C.J.; Kenny, F.M.; Taylor, F.H. Cortisol production rate. 8. Pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 28(5): 661-666, 1968.
- Milinkovic-Tur, S.; Peric, V.; Stojevic, Z.; Zdelar-Tuk, M.; Pirsljin, J. Concentrations of total proteins and albumins, and AST, ALT and GGT activities in the blood plasma of mares during pregnancy and early lactation. *Veterinarski arhiv.*, 75(3): 195-202, 2005.
- Mills, E.D.; Buckman, M.T.; Peake, G.T. Mineralocorticoid modulation of prolactin effect on renal solute excretion in the rat. *Endocrinology*, 112: 823-828, 1983.
- Mishell, D.R. Jr. Infertility. En: *Comprehensive Gynecology.* 4<sup>th</sup> ed. Stenchever, M.A. Stenchever, M.A.; Droegemueller, W. (eds.) St. Louis. Mosby, pp. 1169-1215, 2001.
- Miyazaki, M.; Takai, S. Local angiotensin II generating system in vascular tissues: the roles of chymase. *Hypertens. Res.*, 24: 189-193, 2001.
- Mohri, M.; Allahyari, L.; Sardari, K. Effects of common anticoagulants on routine plasma biochemistry of horse and comparison with serum. *J. Equine Vet. Sci.*, 27(7): 313-316, 2007.

- Molteni, A.; Rahill, W.J.; Koo, J.H. Evidence for a vasopressor substance (renin) in human fetal kidneys. *Lab. Invest.*, 30: 115-118, 1974.
- Montoro, F.J. Influencia de la estabulación y situación fisiológica sobre algunos parámetros relacionados con el metabolismo de la cabra murciana-granadina. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba, 1995.
- Morgan, T.K.; Rohrwasser, A.; Zhao, L.; Hillas, E.; Cheng, T.; Ward, K.J.; Lalouel, J.M. Hypervolemia of pregnancy is not maintained in mice chronically overexpressing angiotensinogen. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 195(6): 1700-1706, 2006.
- Morris, D.D.; Strzemiński, P.J.; Gaulin, G.; Spencer, P. The effects of corticosteroid administration on the migration, phagocytosis and bactericidal capacity of equine neutrophils. *Cornell Vet.*, 78(3): 243-252, 1988.
- Morris, D.D. Alterations in the erythron. En: *Large Animal Internal Medicine*. Smith, B.P. (ed.) St. Louis. The C.V. Mosby Company, pp. 418-424, 1990.
- Morrissey, S.E.; Newth, T.; Rees, R.; Barr, A.; Shora, F.; Laycock, J.F. Renal effects of recombinant prolactin in anaesthetized rats. *Europ. J. Endocrinol.*, 145(1): 65-71, 2001.
- Mosca, L.; Chair, M.D.; Manson, J.E.; Sutherland, S.E.; Langer, R.D.; Teri Manolio, M.D.; Barrett-Connor, M.D. Cardiovascular disease in women. *Circulation*, 96: 2468-2482, 1997.
- Möstl, E. The horse feto placental unit. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 102(3): 166-168, 1994.
- Moutquin, J.M.; Bilodeau, R.; Raynault, P.; Amyot, G.; Blair, J.F.; Labelle, L.; Rainville, C.; Gagnon, L. Étude prospective de la tension artérielle au cours de la grossesse. Prédiction des complications hypertensives. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris)*, 11: 833-837, 1982.
- Mrug, M.; Stopka, T.; Julian, B.A.; Prchal, J.F.; Prchal, J.T. Angiotensin II stimulates proliferation of normal early erythroid progenitors. *J. Clin. Invest.*, 100: 2310-2314, 1997.
- Mrug, M.; Julian, B.A.; Prchal, J.T. Angiotensin II receptor type 1 expression in erythroid progenitors: Implications for the pathogenesis of postrenal transplant erythrocytosis. *Semin. Nephrol.*, 24(2): 120-130, 2004.
- Muir, W.W.; Hubbell, J.A.E. Standing chemical restraint in horses. En: *Equine Anaesthesia*. Mosby Year Book Inc., St. Louis, Missouri, pp. 248-266, 1991.
- Muir, W.M.; Sams, R.A.; Hubbell, J.A.E. Effects of enalaprilat on cardiorespiratory, hemodynamic, and hematologic variables in exercising horses. *Am. J. Vet. Res.*, 62: 1008-1013, 2001.
- Mulrow, P.J. Adrenal renin: regulation and function. *Front. Neuroendocrinol.*, 13: 47-60, 1992.
- Mulrow, P.J.; Franco-Saenz, R. The adrenal renin angiotensin system: a local hormonal regulator of aldosterone production. *J. Hypertens.*, 14: 173-176, 1996.
- Muñoz, A.; Riber, C.; Santisteban, R.; Rubio, M.D.; Agüera, E.I.; Castejón, F.M. Cardiovascular and metabolic adaptations in horses competing in cross country events. *J. Vet. Med. Sci.*, 61: 13-20, 1999.
- Muñoz, A.; Trigo, P.; Satué, K. Perfiles hematológicos y bioquímicos aplicados al caballo de deporte: cambios con el ejercicio y el entrenamiento. *Equinus*, 14: 39-51, 2006.
- Muñoz, A.; Riber, C.; Trigo, P.; Requena, F.; Castejón, C.; Castejón, F. Concentraciones séricas de aldosterona en caballos de resistencia con diferente rendimiento deportivo. *Revista Electrónica de Clínica Veterinaria*, vol 2(8), <http://www.veterinaria.org/revistas/recvet>, 2007.
- Naber, M.E.; Shemesha, M.; Shore, L.S.; Rios, C. Estrogen and progesterone levels in pure bred arabian horses during pregnancy. *Is. J. Vet. Med.*, 54(2): 1-6, 1999.
- Naden, R.P.; Coultrup, S.; Arant, B.S.; Rosenfeld, C.R. Metabolic clearance of angiotensin II in pregnant and nonpregnant sheep. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 249: 49-55, 1985.
- Nagata, S.; Tajeda, F.; Kurosawa, M.; Mima, K.; Hiraga, A.; Kai, M.; Taya, K. Plasma adrenocorticotropin, cortisol and catecholamines response to various exercises. *Equine Vet. J. Suppl.*, 30: 570-574, 1999.
- Nagy, P.; Solti, L.; Kulcsár, M.; Reiczigel, J.; Huszenicza, G.; Abavary, K.; Wölfling, A. Progesterone determination in equine plasma using different immunoassays. *Acta Vet. Hung.*, 46(4): 501-513, 1998.
- Nakai, N.; Nawa, K.; Maekawa, M.; Nagasawa, H. Age related changes in hematological and serum biochemical values in cats. *Jikken Dobutsu*, 41(3): 287-294, 1992.
- Nathanielsz, P.W.; Rosedale, P.D.; Silver, M. Comline, R.S. Studies on fetal, neonatal and maternal cortisol metabolism in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 23: 625-630, 1975.
- N.C.C.L.S. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline. NCCLS document EP9-A [ISBN 1-56238-283-7]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 1995
- Nelson, R.J. Stress. En: *An Introduction to Behavioral Endocrinology*. 2ª ed. Nelson, R.J. (ed.). Massachusetts, Sinauer Associates, pp. 557-591, 2000.

- Nett, T.M.; Holtan, D.W.; Estergreen, V.L. Oestrogen, LH, PMSG and prolactin in serum of pregnant mares. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 23: 457-462, 1975.
- Nett, T.M.; Pickett, B.W.; Seidel, Jr. G.E. Levels of luteinizing hormone and progesterone during the estrous cycle and early pregnancy in mares. *Biol. Reprod.*, 14: 412-415, 1976.
- Neuschaefer, A.; Bracher, A.; Allen, W.R. Prolactin secretion in lactating mares before and after treatment with bromocryptine. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 44: 551-559, 1991.
- Newton, M.A.; Sealey, J.E.; Ledingham, J.G.; Laragh, J.H. High blood pressure and oral contraceptives. Changes in plasma renin and renin substrate and in aldosterone excretion. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 101: 1037-1045, 1968.
- Nickenig, G.; Baumer, A.T.; Grohe, C.; Kehlert, S.; Strehlow, K.; Rosenkranz, S.; Stablein, A.; Beckers, F.; Smits, J.F.; Daemen, M.J.; Vetter, H.; Bohm, M. Estrogen modulates AT1 receptor gene expression in vitro and in vivo. *Circulation*, 97: 2197-2201, 1998.
- Nielsen, A.H.; Schauser, K.H.; Poulsen, K. Current topic: the uteroplacental renin angiotensin system. *Placenta*, 21: 468-477, 2000.
- Nishimoto, M.; Takai, S.; Kim, S.; Jin, D.; Yuda, A.; Sakaguchi, M.; Yamada, M.; Sawada, Y.; Kondo, K.; Asada, K.; Iwao, H.; Sasaki, S.; Miyazaki, M. Significance of chymase dependent angiotensin II forming pathway in the development of vascular proliferation. *Circulation*, 104(11): 1274-1279, 2001.
- Nogueira, G.P.; Campanant, R.; Bedran de Castro; Ferreira, A.; Fernandes, W.R.; Sakata Miranda, R.M.; Howard, D.L. Serum cortisol, lactate and creatinine concentrations in Thoroughbred fillies of different ages and states of training. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 39(1): 54-57, 2002.
- Nolten, W.E.; Lindheimer, M.D.; Rueckert, P.A.; Oparil, S.; Ehrlich, E.N. Diurnal patterns and regulation of cortisol secretion in pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51: 466-472, 1980.
- Nolten, W.E.; Rueckert, P.A. Elevated free cortisol index in pregnancy, possible regulatory mechanism. *Am. J. Obst. Gynaecol.*, 139: 492-498, 1981.
- North, R.H.; McCallum, R.W.; Contine, G.; Havelick, J. Tonic dopaminergic suppression of plasma aldosterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51: 64-69, 1980.
- O'Brien, P.M.S.; Filshie, G.M.; Broughton Pipkin, F. The effect of prostaglandin E2 on the cardiovascular response to angiotensin II in pregnant rabbits. *Prostaglandins*, 13: 171-182, 1977.
- O'Connor, S.J.; Fowden, A.L.; Holdstock, N.; Giussani, D.A.; Forhead, A.J. Developmental changes in pulmonary and renal angiotensin converting enzyme concentration in fetal and neonatal horses. *Reprod. Fertil. Dev.*, 14(7-8): 413-417, 2002.
- O'Connor, S.J.; Ousey, J.C.; Gardner, D.S.; Fowden, A.L.; Giussani, D.A. Development of baroflex function and hind limb vascular reactivity in the horse fetus. *J. Physiol.*, 572: 155-164, 2006.
- O'Mahony, O.A.; Djahanbakhch, O.; Mahmood, T.; Puddefoot, J.R.; Vinson, G.P. Angiotensin II in human seminal fluid. *Human Reprod.*, 15(6): 1345-1349, 2000.
- Oelkers, W.K. Effects of estrogens and progestogens on the renin aldosterone system and blood pressure. *Steroids*, 61: 166-171, 1996.
- Oelkers, W.K. El sistema renina aldosterona y la drospirenona. *Gynecol. Endocrinol.*, 16(1): 83-87, 2002.
- Oelkers, W.; Schoneshofer, M.; Blumel, A. Effects of progesterone and four synthetic progestagens on sodium balance and the renin aldosterone system in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 39(5): 882-890, 1974.
- Oliver, W.J.; Neel, J.V.; Grekin, R.J.; Cohen, E.L. Hormonal adaptation to the stresses imposed upon sodium balance by pregnancy and lactation in the Yanomama Indians, a culture without salt. *Circulation*, 63(1): 110-116, 1981.
- Ondetti, M.A.; Cushman, DW. Enzymes of the renin angiotensin system and their inhibitors. *Am. Rev. Biochem.*, 51: 283-308, 1982.
- Oparil, S.; Ehrlich, E.N.; Lindheimer, M.D. Effects of progesterone on renal sodium handling in man: relation to aldosterone excretion and plasma renin activity. *Clin. Sci.*, 49: 139-147, 1975.
- Oriol, J.G.; Betteridge, K.J.; Clarke, A.J.; Sharom, F.J. Mucin like glycoproteins in the equine embryonic capsule. *Mol. Reprod. Dev.*, 34: 255-265, 1993, a.
- Oriol, J.G.; Sharom, F.J.; Betteridge, K.J. Developmentally regulated changes in the glycoproteins of the equine embryonic capsule. *J. Reprod. Fertil.*, 99: 653-664, 1993, b.
- Orozco, C.; Martins, C.; de Angelins, F.; de Oliveira, A.; de Lacerda Neto, J.C. Hematological values and total protein of Brasileiro de Hipismo and Breton mares during pregnancy. *Cienc. Rural*, 37(6): 1695-1700, 2007.
- Otte, C.; Hart, S.; Neylan, T.C.; Marmar, C.R.; Yaffe, K.; Mohr, D.C. A meta-analysis of cortisol response to challenge in human aging: importance of gender. *Psychoneuroendocrinology*, 30(1): 80-91, 2005.
- Ousey, J.C. Peripartal endocrinology in the mare and foetus. *Reprod. Dom. Anim.*, 39(4): 222-231, 2004.
- Ousey, J.C.; Forhead, A.J.; Rossdale, P.D.; Grainger, L.; Houghton, E.; Fowden, A.L. Ontogeny of uteroplacental progestagen production in pregnant



- mares during the second half of gestation. *Biol. Reprod.*, 69(2): 540-548, 2003.
- Ozegbe, P.C. Influence of pregnancy on some erythrocyte biochemical profiles in the rabbits. *Afr. J. Biomed. Res.*, 4: 135-137, 2001.
- Page, E.W. Plasma angiotensinase concentration in normal and toxemic pregnancy. *Am. J. Med. Sci.*, 213: 715-718, 1947.
- Pandey, K.N.; Misono, K.S.; Inagami, T. Evidence for intracellular formation of angiotensin coexistence of renin and angiotensin converting enzyme in Leydig cells of rat testis. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 122: 1337-1343, 1984.
- Paradis, M.R. Demographics of health and disease in the geriatric horse. *Vet. Clin. Equine*, 18: 391-401, 2002.
- Parente, J.V.; Frances, J.G.; Greene, L.J. Angiotensin converting enzyme: serum levels during normal pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 135: 586-591, 1979.
- Parry, B.W.; Brobst, D.F. Normal clinical pathological data. En: *Current Therapy in Equine Medicine*. 4<sup>a</sup> ed. Robinson, N.W. (ed.) Saunders Company: Philadelphia, pp. 761-772, 1997.
- Pashen, R.L.; Allen, W.R. The role of the fetal gonads and placenta in steroid production, maintenance of pregnancy and parturition in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 27: 499-509, 1979.
- Pashen, R. L.; Allen, W.R. The role of the fetal gonads and placenta in steroid production in the mare. *Equine Vet. J.*, 16: 233-238, 1984.
- Pashen, R.L.; Sheldrick, E.L.; Allen, W.R.; Flint, A.P.F. Dehydroepiandrosterone synthesis by the fetal foal and its importance as an oestrogen precursor. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 32: 389-397, 1982.
- Pastor, J.; Cuenca, R.; Velarde, G.; Viñas, L.; Lavín, S. Hematología animal: revisión de técnicas analíticas. *Med. Vet.*, 12 (11): 658-672, 1995.
- Patel, K.P.; Zhang, P.L. Role of renal nerves in renal responses to acute volume expansion during pregnancy in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 203: 150-156, 1993.
- Paternoster, D.M.; Fantinato, S.; Stella, A.; Nanhornguè, K.N.; Milani, M.; Plebani, M.; Nicolini, U.; Girolami, A. C-reactive protein in hypertensive disorders in pregnancy. *Thromb. Hemost.*, 12(3): 330-337, 2006.
- Peach, M.J. Renin angiotensin system: biochemistry and mechanism of action. *Physiol. Rev.*, 57: 313-370, 1977.
- Peaker, M.; Rosedale, P.D.; Forsyth, I.A.; Falk, M. Changes in mammary development and composition of secretions during late pregnancy in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 27: 555-561, 1979.
- Pedersen, E.B.; Johannesen, P.; Rasmussen, A.B.; Danielsen, H. The osmoregulatory system and the renin angiotensin aldosterone system in preeclampsia and normotensive pregnancy. *Scand. J. Lab. Invest.*, 45: 627-633, 1985.
- Pedersen, R.C.; Brownie A.C.; Ling, N. Proadrenocorticotropin derived peptides coordinate action on adrenal steroidogenesis. *Science*, 208: 1044-1045, 1980.
- Père, M.C.; Etienne, M.; Dourmad, J.Y. Adaptations of glucose metabolism in multiparous sows: Effects of pregnancy and feeding level. *J. Anim. Sci.*, 78: 2933-2941, 2000.
- Père, M.C. Maternofoetal exchanges and utilisation of nutrients by the foetus: comparison between species. *Reprod. Nutr. Dev.*, 43: 1-15, 2003.
- Pereira, J.L.; Orden, M.A.; Fernández, M.J.; Barreiro, A.; Díez, I.; Gonzalo, J.M. Variaciones hematológicas en relación con la gestación y la edad de la raza bovina autóctona blanca cacereña. *Ann. Vet. Murcia*, 3: 93-97, 1987.
- Pérez, G.L.; Restrepo, J.P.; Suárez, V. Perfiles de progesterona sérica en yeguas criollas colombianas gestantes. *Rev. Col. Cienc. Pec.*, 16: 2-3, 2003.
- Perk, K.; Lobi, K. Chemical and paper electrophoretic analysis of normal sheep serum proteins and lipoproteins. *Br. Vet. J.*, 116: 167-172, 1960.
- Persson, S.G.B. On blood volume and working capacity in horses. *Acta Physiol. Scand.*, Suppl., 19: 1-189, 1967.
- Persson, S.G.B. Blood volume, state of training and working capacity of race horses. *Equine Vet. J.*, 52-62, 1968.
- Persson, S.G.B. The circulatory significance of the splenic red cell pool. En: *Proc. International Symposium on Equine Hematology*, pp. 303, 1975.
- Persson, S.G.B. Evaluation of exercise tolerance and fitness in the performance horse. En: *Equine Exercise Physiology*. Snow, D.H.; Persson, S.G.B. y Rose, R.J. (eds). Cambridge, Granta Editions, pp. 441-447, 1983.
- Persson, S.G.B. Heart rate and blood lactate responses to submaximal treadmill exercise in the normally performing Standardbred trotter: age and sex variations and predictability from the total red cell blood volume. *J. Vet. Med. Assoc.*, 44: 125-132, 1997.
- Persson, S.B.G.; Ekman, L.; Lydin, G. Circulatory effects of splenectomy in the horse. I. Effect on the red cell distribution and variability of haematocrit in the

- peripheral blood. Zentralbl. Vet. Med. A., 20: 441-455, 1973.
- Persson, S.G.B.; Larsson, M.; Lindholm, A. Effects of training on adrenal cortical function and red cell volume in trotters. Zentralbl. Veterinaermed. Reihe. A, 27: 261-268, 1980.
- Persson, S.G.B.; Ullberg, L. Blood volume in relation to exercise tolerance in trotters. J. S. Afr. Vet. Assoc., 45 (4): 293-299, 1974.
- Petterson, J.A.; Dunshea, F.R.; Ehrhardt, R.A.; Bell, A.W. Pregnancy and undernutrition alter glucose metabolic responses to insulin in sheep. J. Nutr., 124: 1286-1295, 1993.
- Piccione, G.; Arcigli, A.; Assenza, A.; Caola, G. Variaciones circadianas de algunos parámetros fisiológicos en respuesta al entrenamiento en el caballo de competición. Med. Vet., 18: 607-614, 2001.
- Piccione, G.; Caola, G.; Refinetti, R. Thermal chronobiology of domestic animals. Front Biosci., 1(8): 258-264, 2003.
- Piccione, G.; Giannetto, C.; Fazio, F.; Di Mauro, S.; Caola, G. Haematological response to different workload in jumper horses. Bulg. J. Vet. Med., 10(4): 21-28, 2007.
- Pirani, B.B.K.; Campbell, D.M.; MacGillivray, I. Plasma volume in normal first pregnancy. Int. J. Obst. Gynaecol., 80(10): 884-887, 1973.
- Pivarnik, J.M.; Lee, W.; Miller, J.F.; Werch, J. Alterations in plasma volume and protein during cycle exercise throughout pregnancy. Med. Sci. Sports Exerc., 22: 751-755, 1990.
- Plaschka, S., García López, P., Rivera, L.; López Sebastián, A.; García Sacristán, A. Niveles de estradiol 17 $\beta$ , progesterona y PMSG durante el ciclo reproductor de la yegua de raza española. Med. Vet., 10(7): 422-431, 1993.
- Plaschka, S., García López, P.; Rivera, L.; Martín Fernández, J.; Lema, L.; García Sacristán, A. Parámetros hematológicos y bioquímicos durante la gestación de la yegua de raza española. Med. Vet., 13(12): 647-654, 1996.
- Plaschka, S., García López, P., Rivera, L.; Martín Fernández, J.; Lema, L.; García Sacristán, A. Parámetros hematológicos y bioquímicos en el parto de la yegua de raza española. Med. Vet., 14(4): 203-209, 1997.
- Plentl, A.A.; Gray, M.J. Total body water, sodium space and total exchangeable sodium in normal and toxæmic pregnant women. Am. J. Obstet. Gynecol., 78: 472-478, 1959.
- Plotka, E.D.; Eagle, T.C.; Gaulke, S.J.; Tester, J.R.; Siniff, D.B. Hematologic and blood chemical characteristics of feral horses from three management areas. J. Wild. Dis., 24(2): 231-239, 1988.
- Poston, L.; McCarthy, A.L.; Ritter, J.M. Control of vascular resistance in the maternal and fetoplacental arterial beds. Pharmacol. Ther., 65: 215-239, 1995.
- Pupkin, M.J.; Schomberg, D.W.; Nagey, D.A.; Crenshaw, C. Effects of exogenous dehydroepiandrosterone upon fetoplacental biosynthesis of estrogens and its effect upon uterine blood flow in the pregnant ewe. Am. J. Obstet. Gynecol., 121: 227-232, 1975.
- Radin, M.J.; Eubank, M.C.; Weiser, M.G. Electronic measurement of erythrocyte volume and volume heterogeneity in horses during erythrocyte regeneration associated with experimental anemias. Vet. Pathol., 23: 656-660, 1986.
- Raeside J.I.; Liptrap, R.M.; McDonnell, W.N.; Milne, F.J. A precursor role for DHA in a fetoplacental unit for oestrogen formation in the mare. J. Reprod. Fertil. Suppl., 27: 493-497, 1979.
- Raeside, J.I.; Renaud, R.L.; Christie, H.L. Postnatal decline in gonadal secretion of dehydroepiandrosterone and 3  $\beta$ -hydroxyandrost-5,7-dien-17-one in the newborn foal. J. Endocrinol., 155(2): 277-282, 1997.
- Rakotondrazafy, J.; Brudieux, R. Age related change in plasma aldosterone response to exogenous angiotensin II in the rat. Horm. Res., 39(3-4): 156-160, 1993.
- Ralston, S.; Nockels, C.; Squires, E. Differences in diagnostic test results and hematologic data between aged and young horses. Am. J. Vet. Res., 49: 1387-1392, 1988.
- Ramos, J.J.; Marca, M.C.; Fernández, A.; Saez, T.; Sanz, M.C. Parámetros hematológicos sanguíneos en ovejas y corderos de la raza Rasa Aragonesa: valores de referencia y modificaciones fisiológicas. Med. Vet., 9(1): 34-45, 1992.
- Ratnassooriya, W.D.; Caldera, H.S.; Premakumara, G.A.S.; Liyanage, G.K.; Manatunga, A.M.V.R.; Fernando, S. B.U. Some haematological values during normal pregnancy in the Sri Lankan elephant (*Elephas maximus maximus*). Med. Sci. Res., 21: 153-156, 1993.
- Raymond, S.L.; Smith, T.K.; Swamy, H.V. Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with Fusarium mycotoxins on feed intake, serum chemistry, and hematology of horses, and the efficacy of a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent. J. Anim. Sci., 81(9): 2123-2130, 2003.
- Reese, D.E.; Peo, Jr. E.R.; Lewis, A.J.; Hogg, A. Serum chemical values of gestating and lactating swine: reference values. Am. J. Vet. Res., 45: 978-980, 1984.

- Reid, I.A. The renin angiotensin system: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Adv. Physiol. Educ.*, 20(1): 236-245, 1998.
- Resnik, R.; Killam, A.P.; Battaglia, F.C.; Makowski, E.L.; Meschia, G. The stimulation of uterine blood flow by various oestrogens. *Endocrinology*, 94: 1192-1196, 1974.
- Revington, M. Haematology of the racing thoroughbred in Australia: I. Reference values and the effect of excitement. *Equine Vet. J.*, 15: 141-144, 1983.
- Ricketts S.W. The laboratory as an aid to clinical disorders. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 3: 445-460, 1987.
- Rinsler, M.G.; Rigby, B. Function of aldosterone in the metabolism of sodium and water in pregnancy. *Br. Med. J.*, 5051: 966-968, 1957.
- Roarty, G. Cushing's syndrome in the horse: a review. *Irish Vet. J.*, 43: 118-120, 1990.
- Robb, C.A.; Davis, J.O.; Johnson, J.A.; Blaine, E.H.; Schneider, E.G.; Baumber, J.S. Mechanisms regulating the renal excretion of sodium during pregnancy. *J. Clin. Invest.*, 49: 871-880, 1970.
- Roberts, M.C. Serum and red cell folate and serum vitamin B12 levels in horses. *Aust. Vet. J.*, 60: 106-111, 1983.
- Robson, P.J.; Alston, T.D.; Myburgh, K.H. Prolonged suppression of the innate immune system in the horse following an 80 km endurance race. *Equine Vet. J.*, 35(2): 133-137, 2003.
- Robson, S.C.; Hunter, S.; Boys, R.J.; Dunlop, W. Serial study of factors influencing changes in cardiac output during human pregnancy. *Am. J. Physiol.*, 256: 1060-1065, 1989.
- Rodgers, K.E.; Xiong, S.; Steer, R.; diZerega, G.S. Effect of angiotensin II on hematopoietic progenitor cell proliferation. *Stem Cells*, 18: 287-294, 2000.
- Roesch, D.M.; Tian, Y.; Zheng, W.; Shi, M.; Verbalis, J.G.; Sandberg, K. Estradiol attenuates angiotensin induced aldosterone secretion in ovariectomized rats. *Endocrinology*, 141(12): 4629-4636, 2000.
- Rook, J.S.; Braselton, W.E.; Nachreiner, R.F. Multielemental assay of mammary secretions and sera from periparturient mares by inductively coupled argon plasma emission spectroscopy. *Am. J. Vet. Res.*, 58: 376-378, 1997.
- Rose, R.J. Electrolyte profiles in horses. *Vet. Ann.*, 25: 217-225, 1985.
- Rose, R.J.; Allen, J. Hematological responses to exercise and training. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 1: 461-476, 1985.
- Rose, R.; Arnold, K.S.; Church, S.; Paris, R. Plasma and sweat electrolyte concentrations in the horse during long distance exercise. *Equine Vet. J.*, 12: 19-22, 1980.
- Rose, R.J.; Hodgson, D.R.; Sampson, D. Changes in plasma biochemistry in horses competing in a 160 km endurance ride. *Austr Vet. J.*, 60: 101-105, 1983.
- Rose, R.J.; Hodgson, D.R. Hematology and biochemistry. En: *The Athletic Horse: Principles and practice of equine sports medicine*. Hodgson, D.R.; Rose, R.J. (eds.) W.B. Saunders Company, pp. 63-76, 1994.
- Rosenthal, H.E.; Slaunwhite, W.R.; Sandberg, A.A. Transcortin: A corticosteroid binding protein of plasma. X cortisol and progesterone interplay and unbound levels of these steroids in pregnancy. *J. Clin. Endocrinol.*, 29: 352-367, 1969.
- Ross, M.G.; Idah, R. Correlation of maternal plasma volume and composition with amniotic fluid index in normal human pregnancy. *J. Maternal-Fetal Neonat. Med.*, 15(2): 104-108, 2004.
- Rothuizen, J.; Reul, J.M.; van Sluijs, F.J.; Mol, J.A.; Rijnberk, A.; de Kloet, E.R. Increased neuroendocrine reactivity and decreased brain mineralocorticoid receptor binding capacity in aged dogs. *Endocrinol.*, 132(1): 161-168, 1993.
- Rovira, S., Estudio cardiovascular en potros Pura Raza Española de diferentes edades: análisis electrocardiográficos, ecocardiográficos y neuroendocrinos. Tesis Doctoral. Universidad CEU-Cardenal Herrera, Valencia, España, 2007.
- Rowlands, G.J.; Manston, R.; Pocock, R.M.; Dew, S.M. Relationships between stage of lactation and pregnancy and blood composition in a herd of dairy cows and the influences of seasonal changes in on these relationships. I. *Dairy Res.*, 42: 349-362, 1975.
- Rowlands, G.J.; Little, W.; Stark, A.J.; Manston, R. The blood composition of cows in commercial dairy herds and its relationships with season and lactation. *Br. Vet. J.*, 135: 64-74, 1979.
- Rubattu, S.; Quimby, F.W.; Sealy, J.E. Tissue renin and prorenin increase in female cats during the reproductive cycle without commensurate changes in plasma, amniotic or ovarian follicular fluid. *J. Hypertens.*, 9: 525-535, 1991.
- Rubio, D.; Riber, C.; Santisteban, R.; Tovar, P.; Castejón, F.M. Hematological alterations as an index of exercise tolerance in different breeds of horses (Andalusian, Arab and Anglo-Arab). *Equine Athl.*, 7: 10-12, 1994.
- Rubio, M.D.; Muñoz, A.; Santisteban, R.; Tovar, P.; Castejón, F.M. Comparative hematological study of two breeds of foals (Andalusian and Arabian) subjected to exercise of progressive intensity. *J. Vet. Med. Sci.*, 57(2): 311-315, 1995.

- Ryan, J.W.; Chung, A.; Ammons, C.; Carlton, M.L. A simple radioassay for angiotensin convertin enzyme. *Biochem. J.*, 167: 501-504, 1977.
- Sakurai, N.; Senta, T.; Amada, A. Effect of venopuncture on the heart rate and blood picture in the horse. *Exp. Rep. Eq. Health Lab.*, Tokyo, 4: 1-6, 1967.
- Sala, C.; Campise, M.; Ambroso, G.; Motta, T.; Zanchetti, A.; Morganti, A. Atrial natriuretic peptide and hemodynamic changes during normal human pregnancy. *Hypertension*, 25: 631-636, 1995.
- Salas, S.P.; Giacaman, A.; Vio, C.P. Pregnant rats with 5/6 nephrectomy have normal volume expansion despite lower renin and kallikrein. *Hypertension*, 42(4): 744-748, 2003.
- Saleh, M.A.; El-Sokkary, G.H.; Abdel-Razik, K.H. Circulating steroids and protein in Egyptian Oasis pregnant camels (*Camelus Dromedarius*). *J. Camel Pract. Res.*, 7(1): 9-13, 2000.
- Sangiorgi, G.B.; Di Sciacca, A.; Pardo, A. Potassium depletion in aged patients: an evaluation through red blood cell potassium determination. *Age Ageing*, 8: 190-195, 1979.
- Santos, R.A.; Brosnihan, K.B.; Jacobsen, D.W.; diCorleto, P.E.; Ferrario, C.M. Production of angiotensin (1-7) by human vascular endothelium. *Hypertension*, 19 (2): 56-61, 1992.
- Sapolsky, R.M.; Krey, L.C.; McEwen, B.S. The neuroendocrinology of stress and aging; the glucocorticoid cascade hypothesis. *Endocrinology*, 7: 234-304, 1986.
- Sassard, J.; Sann, L.; Vincent, M.; Francois, R.; Cier, J.F. Plasma renin activity in normal subjects from infancy to puberty. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 40: 524-525, 1975.
- Satué K. Hematología en la yegua Pura Raza Española de Estirpe Cartujana. Tesis Doctoral. Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Universidad CEU-Cardenal Herrera, Valencia, 2004.
- Satué, K.; Domingo, R.; Muñoz, A. Serum cortisol concentrations in Spanish mares during pregnancy. *Ippologia*, 18(3): 1-5, 2007.
- Schalekamp, M.A. Renin angiotensin system components and endothelial proteins as markers of diabetic microvascular disease. *Clin. Investig.*, 71(5): 3-6, 1993.
- Schalm, O.W. Valores normales de la morfología sanguínea. En: *Hematología Veterinaria*. Unión Tipográfica. Ed. Hispano-Americana, México, pp. 175-183, 1964.
- Schalm, O.W.; Jain, N.C.; Carroll, E.J. *Veterinary Haematology*. 3ª ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1975.
- Schalm, O.W.; Carlson, G.P. The blood and the blood forming organs. En: *Equine Medicine and Surgery*. 3ª ed. Vol. 1. American Veterinary Publications, pp. 377-414, 1982.
- Schauser, K.H.; Nielsen, A.H.; Dantzer, V.; Poulsen, K. Angiotensin type 2 receptors mediate depressor phase of biphasic pressure response to angiotensin. *Am. J. Physiol.*, 22(10): 852-862, 2001.
- Schiepati, A.; Remuzzi, G. Proteinuria y sus consecuencias sobre la enfermedad renal. *Acta Pediatr.*, 92(443): 9-13, 2003.
- Schneider, G.; Mulrow, P.J. Regulation of aldosterone production during pregnancy in the rat. *Endocrinology*, 92: 1208-1215, 1973.
- Schott, H.C.; McGlade, K.S.; Molander, H.A.; Leroux, A.J.; Hines, M.T. Body weight, fluid, electrolyte, and hormonal changes in horses competing in 50 and 100 mile endurance rides. *Am. J. Vet. Res.*, 58: 303-309, 1997.
- Schrier, R.W.; Briner, V.A. Peripheral arterial vasodilation hypothesis of sodium and water retention in pregnancy. Implications for pathogenesis of preeclampsia and eclampsia. *Obst. Gynaecol.*, 77: 632-639, 1991.
- Sealander, J.A. The influence of body size, season, sex, age and others factors upon some blood parameters in small mammals. *J. Mamm.*, 45: 598-616, 1964.
- Sealey, J.E. Plasma renin activity and plasma prorenin assays. *Clin. Chem.*, 37: 1811-1819, 1991.
- Sealey, J.E.; Catanzaro, D.F.; Lavin, T.N. Specific prorenin/renin binding identification and characterization of a novel membrane site. *Am. J. Hypertens.*, 9: 491-502, 1996.
- Sealey, J.E.; Cholst, I.; Glorioso, N.; Troffa, C.; Weintraub, I.D.; James, G.; Larga, J.H. Sequential changes in plasma luteinizing hormone and plasma prorenin during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 63: 1-10, 1987.
- Sealey, J.E.; Itskovitz-Eldor, J.; Rubattu, S.; James, G.; August P.; Thaler, I.; Levrone, J.; Laragh, J. Estradiol and progesterone related increases in the renin aldosterone system: Studies during ovarian stimulation and early pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 79(1): 258-264, 1994.
- Sealey, J.E.; Laragh, J.H. The integrated regulation of electrolyte balance and blood pressure by the renin system. En: *The Regulation of Sodium and Chloride Balance*. Seldin, D.W., Giebisch, G. (eds.). Raven Press. New York (USA). pp. 133-193, 1990.
- Sealey, J.E.; McCord, D.; Taufield, P.A.; Ales, K.A.; Druzim, M.L.; Atlas, S.A.; Laragh, J.H. Plasma prorenin in first trimester pregnancy: relationship to changes in chorionic gonadotropin. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 153: 514-519, 1985.

- Sealey, J.E.; Rubattu, S. Prorenin and renin as separate mediators of tissue and circulating systems. *Am. J. Hypertens.*, 2(5): 358-366, 1989.
- Seren, E.; Tamanini, C.; Gaiani, R.; Bono, G. Concentrations of progesterone, 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone and 20 $\alpha$ -dihydroprogesterone in the plasma of mares during pregnancy and at parturition. *J. Reprod. Fertil.*, 63: 443-448, 1981.
- Serreau, R.; Luton, D.; Macher, M.A.; Delezoide, A.L.; Garel, C.; Jacqz-Aigrain, E. Developmental toxicity of the angiotensin II type 1 receptor antagonists during human pregnancy: a report of 10 cases. *J. Obstet. Gynaecol.*, 112(6): 710-712, 2005.
- Sharma, S.; Shalini, S.; Nalini, K.; Kataria, N. Influence of age and sex on serum electrolytes in Magra sheep. *Ann. Biol.*, 21(1): 93-98, 2005.
- Sharp, G.W.; Leaf, A. Mechanism of action of aldosterone. *Physiol. Rev.*, 46(4): 593-633, 1966.
- Sheehan, T.J.; Broughton Pipkin, F.; O'Brien, P.M. Prostaglandins, angiotensin and blood pressure in pregnant rabbits. *Clin. Exp. Hypertens.*, 2: 307-315, 1983.
- Shibata, E.; Powers, R.W.; Rajakumar, A.; von Versen-Höynck, F.; Gallaher, M.J.; Lykins, D.L.; Roberts, J.M.; Hubel, C.A. Angiotensin II decreases system a amino acid transporter activity in human placental villous fragments through AT1 receptor activation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.*, 291(5): 1009-1016, 2006.
- Short, R.V. Progesterone in blood. IV. Progesterone in the blood of mares. *J. Endocrinol.*, 19: 207-210, 1959.
- Short, R.V. Implantation and the maternal recognition of pregnancy. En: *Foetal Autonomy*. Churchill, London. Ciba Foundation Symposium, pp. 2-26, 1969.
- Sibai, B.M.; Frangieh, A. Maternal adaptation to pregnancy. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 7(6): 420-426, 1995.
- Siciliano, P.D. Nutrition and feeding of the geriatric horse. *Vet. Clinics North Am. Equine Pract.*, 18: 491-508, 2002.
- Siddiqi, T.A.; Koenig, B.B.; Clark, K.E. Pregnancy causes a decrease in the number and affinity of myometrial angiotensin II receptors. *Obst. Gynecol.*, 68: 820-824, 1986.
- Siebers, M.J.; Goodfriend, T.L.; Ball, D.; Elliott, M.E. Analysis of angiotensin II binding to human platelets: differences in young and old subjects. *J. Gerontol.*, 45: 42-47, 1990.
- Silver, M. Placental progestagens in the sheep and horse and the changes leading to parturition. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 102: 203-211, 1994.
- Sims, E.A.; Meeker, C.I.; Gray, M.J.; Watanabe, M.; Solomon, S. The secretion of aldosterone in normal pregnancy and in preeclampsia. En: *Aldosterone, a symposium*. Ed. Baulieu, E.E.; Robel, P. Oxford. Blackwell, pp. 400, 1964.
- Singh, C.A.; Rattan, P.J.S. Seasonal variations in the contents of haemoglobin and the packed cell volume in the blood of Corriedale rams. *J. Res. Agric. Univ.*, 18: 341-344, 1981.
- Skidgel, R.A.; Erdős, E.G. Angiotensin converting enzyme (ACE) and neprilysin hydrolyze neuropeptides: a brief history, the beginning and follow-ups to early studies. *Peptides*, 25: 521-525, 2004.
- Skidmore, J.A.; Billah, M.; Allen, W.R. The ovarian follicular wave pattern and induction of ovulation in the mated and non mated one humped camel (*Camelus dromedarius*). *J. Reprod. Fertil.*, 106: 185-192, 1996.
- Skinner, S.L. The renin system in fertility and normal human pregnancy. En: *The Renin Angiotensin System*. Robertson, J.I.S.; Nicolls, M.G. (eds.) Gower Medical Publishing. London, pp. 1-16, 1993.
- Skinner, S.L.; Cran, E.J.; Gibson, R. Angiotensin I and II, active and inactive renin, renin substrate, renin activity, and angiotensinase in human liquor amnii and plasma. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 121(5): 626-630, 1975.
- Skinner, S.L.; Lumbers, E.R.; Symonds, E.M. Renin concentration in human fetal and maternal tissues. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 101(4): 529-533, 1968.
- Skinner, S.L.; Lumbers, E.R.; Symonds, E.M. Analysis of changes in the renin angiotensin system during pregnancy. *Clin. Sci.*, 42: 479-488, 1972.
- Skinner, S.L.; McCubbin, J.W.; Page, I.H. Control of renin secretion. *Circulation Res.*, 15: 64-76, 1964.
- Skotnicka, E. Circadian variations of plasma renin activity (PRA), aldosterone and electrolyte concentrations in plasma in pregnant and non pregnant goats. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*, 134(3): 385-395, 2003.
- Sleeper, M.M. Myocardial disease. En: *Current Therapy in Equine Medicine*. 5<sup>th</sup> ed. Robinson, N.E. (ed.) Philadelphia, P.A. WB Saunders, pp. 620-621, 2003.
- Sloet Van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M.M. The role of metabolic profiles in the sports horses. *World Equine Vet. Rev.*, 4(4): 3-21, 1999.
- Smeaton, T.C.; Andersen, G.J.; Fulton, J.S. Study of aldosterone levels in plasma during pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 44: 1-7, 1977.
- Smith, B.P. *Large Animal Internal Medicine*. 3<sup>rd</sup> ed. Mosby Publishing, St Louis, 2002.
- Snow, D.H.; Kerr, M.G.; Nimmo, M.A.; Abbott, E.M. Alterations in blood, sweat, urine and muscle

- composition during prolonged exercise in the horse. *Vet. Rec.*, 110: 377-384, 1982.
- Snow, D.H.; Mackenzie, G. Some metabolic effects of maximal exercise in the horse and adaptation with training. *Equine Vet. J.*, 9: 134-140, 1977.
- Snow, D.H.; Ricketts, S.W.; Douglas, T.A. Post race biochemistry in thoroughbreds. En: *Equine Exercise Physiology*. Snow, D.H.; Persson, S.G.B.; Rose, R.J. (eds.) Cambridge, Granta Editions, pp. 389-399, 1983.
- Snow, D.H.; Rose, R.J. Hormonal changes associated with long distance exercise. *Equine Vet. J.*, 13: 195-197, 1981.
- Snyder, N.A.; Feigal, D.W.; Arieff, A.I. Hyponatremia in elderly patients: a heterogeneous, morbid and iatrogenic entity. *Ann. Intern. Med.*, 107: 209-319, 1987.
- Sojka, J.; Levy, M. Evaluation of endocrine function. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 11(3): 415-435, 1995.
- Soler-Soler, J. ¿Se necesitan más fármacos para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca? Diferencias entre los ensayos clínicos y la práctica clínica. Antagonistas de los receptores de la angiotensina II e insuficiencia cardíaca. *Rev. Esp. Cardiol.*, 6: 25-28, 2006.
- Soliman, M.K.; Nadim, M.A. Calcium sodium and potassium level in the serum and seat of healthy horses after strenuous exercise. *Zentralbl. Vet. Med.* 14: 53-56, 1967.
- Souza, A.I.; Filho, M.B.; Ferreira, L.O. Alterações hematológicas e gravidez. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, 24(1): 29-36, 2002.
- Spencer, T.E.; Johnson, G.A.; Burghardt, R.C.; Bazer, F.W. Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights from domestic animals. *Biol. Reprod.*, 71: 2-10, 2004.
- Sprouse, R.F.; Garner, H.E.; Green, E.M. Plasma endotoxin levels in horses subjected to carbohydrate induced laminitis. *Equine Vet. J.*, 19: 25-28, 1987.
- Squire, I.B.; Reid, J.L. Interactions between the renin angiotensin system and the autonomic nervous system. En: *The Renin Angiotensin System*. Robertson, J.I.S.; Nicholls, M.G. (eds.) London, UK. Gower Medical Publishing, 37: 1-16, 1993.
- Squires, E.L. Endocrinology of pregnancy. En *Equine Reproduction*. McKinnon, A.O.; Voss, J.L. (eds.) Lea & Febiger. Philadelphia, pp. 495-500, 1993.
- Squires, E.L.; Wentworth, B.C.; Ginther, O.J. Progesterone concentration in blood of mares during the estrous cycle, pregnancy and after hysterectomy. *J. Anim. Sci.*, 39: 759-767, 1974.
- Stabenfeldt, G.H.; Daels, P.F.; Munro, C.J.; Kindahl, H.; Hughes, J.P.; Lasley, B.L. 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, 1991.
- Stachenfeld, N.; Taylor, H.S. Effects of estrogen and progesterone administration on extracellular fluid. *J. Appl. Physiol.*, 96(3): 1011-1018, 2004.
- Stark, P.; Beckerhoff, R.; Leumann, EP; Vetter, W; Siegenthaler, W. Control of plasma aldosterone in infancy and childhood: a study of plasma renin activity, plasma cortisol and plasma aldosterone. *Helv. Paediatr. Acta*, 30: 349-356, 1975.
- Steinhardt, M.; Thielscher, H.H.; von Horn, T.; von Horn, R.; Ermgassen, K.; Ladewig, J.; Smidt, D. The hemoglobin concentration in the blood of dairy cattle of different breeds and their offspring during the peripartum period. *Tierärztl. Prax.*, 22(2): 129-135, 1994.
- Stephen, M.R.; Lindop, G.B.M.. A renin secreting ovarian steroid cell tumor. Androgen induced erythrocytosis. *Am. J. Haematol.*, 59: 263-264, 1998.
- Stewart, G.A.; Clarkson, G.T.; Steel, J.D. Hematology of the racehorse and factors affecting interpretation of the blood count. En: *Proceedings of Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, pp. 17, 1970.
- Stewart, F.; Allen, W.R.; Moor, R.M. Pregnant mare serum gonadotrophin: Ratio of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone activities measured by radioreceptor assay. *J. Endocrinol.*, 71: 371-382, 1976.
- Stewart, G.A.; Steel, J.D. Haematology of the fit racehorse. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 45: 287-291, 1974.
- Stillions, M.C.; Teeter, S.M.; Nelson, W.E. Utilization of dietary vitamin B12 and cobalt by mature horses. *J. Anim. Sci.*, 32: 252-255, 1971.
- St-Louis, J.; Massicotte, G. Chronic decrease of blood pressure by rat relaxin in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci.*, 37: 1351-1357, 1985.
- St-Louis, J.; Sicotte, B.; Beauséjour, A.; Brochu, M. Remodeling and angiotensin II responses of the uterine arcuate arteries of pregnant rats are altered by low and high sodium intake. *Reproduction*, 131: 331-339, 2006.
- Stockham, S.L. Interpretation of equine serum biochemical profile results. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 11: 345-350, 1995.
- Stout, T.A.E.; Allen, W.R. Prostaglandin E2 and F2 $\alpha$  production by equine conceptuses and concentrations in conceptus fluids and uterine flushings recovered from early pregnant and dioestrous mares. *Reproduction*, 123: 261-268, 2002.
- Stull, C.L.; Rodiek, A.V. Physiological responses of horses to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. *J. Anim. Sci.*, 78(6): 1458-1466, 2000.

- Sufit, E.; Houpt, K.A.; Sweeting, M. Physiological stimuli of thirst and drinking patterns in ponies. *Equine Vet. J.*, 17(1): 12-16, 1985.
- Sullivan, C.; Matrin, J. Sodium and pregnancy. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 37: 558-573, 1994.
- Sun, Y. The renin angiotensin aldosterone system and vascular remodeling. *Congest. Heart Fail.*, 8(1): 11-16, 2002.
- Sundsford, J.A. Plasma renin activity and aldosterone excretion during prolonged progesterone administration. *Acta Endocrinol.*, 67(3): 483-490, 1971.
- Sundsford, J.A.; Askvaag, A. Plasma angiotensin II and aldosterone excretion during the menstrual cycle. *Acta Endocrinol. (Copenh)*, 64: 452-458, 1970.
- Suzuki, T.; Suzuki, N.; Shimoda, K.; Nagasawa, H. Hematological and serum biochemical values in pregnant and postpartum females of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Exp. Anim.*, 45(1): 39-43, 1996.
- Swenson, M.J.; Reece, W.R. Duke's physiology of domestic animals. Part II. Exercise Physiology. Comstock Publishing Ass. Cornell Univ. Press. Ithaca and London, pp. 303-324, 1993.
- Symonds, E.M. The renin angiotensin system and sodium excretion during gestation. *Perspect Nephrol. Hypertens.*, 5: 271-279, 1976.
- Symonds, E.M. The renin angiotensin system in pregnancy. *Obstet. Gynaecol. Ann.*, 10: 45-67, 1981.
- Symonds, E.M.; Broughton Pipkin, F.; Craven, D.J. Changes in the renin angiotensin system in normotensive and hypertensive women during pregnancy and parturition. *Israel J. Med. Sci.*, 12(6): 495-498, 1976.
- Symonds, E.M.; Skinner, S.L.; Stanley, M.A.; Kirkland, J.A.; Ellis, R.C. An investigation of the cellular source of renin in human chorion. *J. Obstet. Gynecol. Br. (Common.)*, 77(10): 885-890, 1970.
- Symonds, E.M.; Stanley, M.A.; Skinner, S.L. Production of renin by in vitro cultures of human chorion and uterine muscle. *Nature*, 217: 1152, 1968.
- Tache, A.; Alhenc-Gelas, F.; Soto, J. New tools for the study of the renin angiotensin system in pregnancy: direct radioimmunoassays for angiotensinogen, renin and converting enzyme in mother and fetus blood at delivery. *Proc. International Congress on Hypertension in Pregnancy*, Amsterdam, 1985.
- Tait, A.D.; Santikarn, L.C.; Allen, W.R. Identification of 3-hydroxy-5,7 pregnandien-20-one and 3-hydroxy-5,7 androstadien-17-one as endogenous steroids in the foetal horse gonad. *J. Endocrinol.*, 99: 87-92, 1983.
- Takata, K.; Kasahara, T.; Kasahara, M.; Ezaki, O.; Hirano, H. Immunolocalization of glucose transporter GLUT-1 in the rat placental barrier: possible role of GLUT-1 and the gap junction in the transport of glucose across the placental barrier. *Cell Tissue Res.*, 276: 411-418, 1994.
- Takeda, R.; Morimoto, S.; Uchida, K.; Miyamori, I.; Hashiba, T. Effect of age on plasma aldosterone response to exogenous angiotensin II in normotensive subjects. *Acta Endocrinol.*, 94(4): 552-558, 1980.
- Takeda-Matsubara, Y.; Iwai, M.; Cui, T.X.; Shiuchi, T.; Liu, H.W.; Okumara, M.; Ito, M.; Horiuchi, M. Roles of angiotensin type 1 and 2 receptors in pregnancy associated blood pressure change. *Am. J. Hypertens.*, 17(8): 684-689, 2004.
- Takimoto-Ohnishi, E.; Junji Ishida, T.S.; Fumihito, J.O.; Yagami, S.K.; Fukamizu, A. Differential roles of renin and angiotensinogen in the fetomaternal interface in the development of complications of pregnancy. *Mol. Endocrinol.*, 19(5): 1361-1372, 2005.
- Takubo, T.; Tatsumi, N. Reference values for hematologic laboratory test and hematologic disorders in the aged. *Rinsho Byori.*, 48(3): 207-216, 2000.
- Talledo, O.E.; Chesley, L.C.; Zuspan, F.P. Renin angiotensin system in normal and toxemic pregnancies. III: Differential sensitivity to angiotensin II and norepinephrine in toxemia of pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 100: 218-221, 1968.
- Tank, J.E.; Vora, J.P.; Houghton, D.C.; Anderson, S. Altered renal vascular responses in the aging rat kidney. *Am. J. Physiol. Renal Fluid Electrolyte Physiol.*, 266: 942-948, 1994.
- Tao, S.H.; Feng, Z.C.; Du, J. Detection of angiotensin II in the maternal fetal interface in pregnancy induced hypertension. *Nan. Fang. Yi. Ke. Da. Xue. Xue. Bao.*, 27(12): 1869-1871, 2007.
- Tapia, H.R.; Johnson, C.E.; Strong, C.G. Renin angiotensin system in normal and in hypertensive disease of pregnancy. *Lancet*, 2(7782): 847-850, 1972.
- Tasker, J.B. Fluid and electrolyte studies in the horse I. Blood values in 100 normal horses. *Cornell Vet.*, 57: 67-73, 1967.
- Taylor-Macallister, C.; Macallister, C.G.; Walker, D.; Aalseth, D. Haematology and serum biochemistry evaluation in normal postpartum mares. *Equine Vet. J.*, 29(3): 234-235, 1997.
- Terblanche H.M.; Maree, L. Plasma progesterone levels in the mare during the oestrous cycle and pregnancy. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 52(3): 181-185, 1981.
- Tetlow, H.; Broughton Pipkin, F. Studies on the effect of mode of delivery on the renin angiotensin system in mother and fetus at term. *British J. Obst. Gynaecol.*, 90: 220-226, 1983.
- Tewksbury, D.A. Angiotensinogen biochemistry and molecular biology. En: *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management*. Laragh, J.H.; Brenner,

- B.M. (eds.) Raven Press. New York, pp. 1197-1216, 1990.
- Thomas, J.S. Overview of plasma proteins. En: Schalm's Veterinary Hematology. 5<sup>a</sup> ed. Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. (eds.) Lippincott. Williams & Wilkins, pp. 891-897, 2000.
- Thompson, M.M.; Oyama, T.T.; Kelly, F.J.; Kennefick, T.M.; Anderson, S. Activity and responsiveness of the renin angiotensin system in the aging rat. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 279: 1787-1794, 2000.
- Thorburn, G.D. A speculative view of parturition in the mare. *J. Reprod. Fertil. Dev.*, 3: 277-294, 1993.
- Thornton, J.R. Hormonal responses to exercise and training. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 1(3): 477-496, 1985.
- Thornton, J.R. Effect of the microclimate on horses during international air transportation in an enclosed container. *Aust. Vet. J.*, 78(7): 472-477, 2000.
- Thornton, S.N.; Omouessi, S.T.; Falconetti, C. Mineralocorticoid modulation of central angiotensin induced neuronal activity, water intake and sodium appetite. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 40(5): 699-705, 2007.
- Tierney, W.M.; Martin, D.K.; Greenlee, M.C.; Zerbe, R.L.; McDonald, C.J. The prognosis of hyponatremia at hospital admission. *J. Gen. Intern. Med.*, 1: 380-385, 1987.
- Tillman, L.G. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the angiotensin converting enzyme inhibitors, captopril and enalapril in the horse. Thesis, University of Georgia, Athens, Georgia. 1987.
- Tillman, L.G.; Moore, J.N. Serum angiotensin converting enzyme activity and response to angiotensin I in horses. *Equine Vet. J.*, 7: 80-83, 1989.
- Timmermans, P.B.; Wong, P.C.; Chui, A.T. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol. Rev.*, 45: 205-251, 1993.
- Tomala, J.; Jendryczko, A.; Kossowski, P. Serum potassium levels during pregnancy. *Zentralbl. Gynecol.*, 116(5): 285-288, 1994.
- Tood, J.R.; Thompson, R.H. Major blood electrolyte concentration in cattle during the development of hypomagnesemia. *Brit. Vet. J.*, 116: 437, 1960.
- Trum, B.F. Normal variances in horse blood due to breed, age, lactation, pregnancy and altitude. *Am. J. Vet. Res.*, 13: 514-519, 1951.
- Tsumagari, S.; Higashino, T.; Takagi, K.; Ohba, S.; Satoh, S.; Takeishi, M. Changes of plasma concentrations of steroid hormones, prostaglandin F<sub>2</sub> alpha metabolite and pregnant mare serum gonadotropin during pregnancy in thoroughbred mares. *J. Vet. Med. Sci.*, 53(5): 797-801, 1991.
- Tsunoda, K.; Abe, K.; Goto, T.; Yasujima, M.; Sato, M.; Omata, K.; Seino, M.; Yoshinaga, K. Effect of age on the renin angiotensin aldosterone system in normal subjects: simultaneous measurement of active and inactive renin, renin substrate, and aldosterone in plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 62: 384-389, 1986.
- Tumbleson, M.E.; Tinsley, O.W.; Hicklin, K.W.; Mulder, J.B. Fetal and neonatal development of Sinclair (S-1) miniature piglets effected by maternal dietary protein deprivation. *Growth*, 36(4): 373-387, 1972.
- Tyler, R.D.; Cowell, R.L.; Clinkenbeard, K.D.; MacAllister, C.G. Hematologic values in horses and interpretation of hematologic data. *Vet. Clinics North Am. Equine Pract.*, 3: 461-484, 1987.
- Tyler-McGowan, C.M.; Golland, L.C.; Evans, D.L.; Hodgson, D.R.; Rose, R.J. Haematological and biochemical responses to training and overtraining. *Equine Vet. J. Suppl.*, 30: 621-625, 1999.
- Uchiyama, T.; Tokoi, K.; Deki, T. Successive changes in the blood composition of experimental normal beagle dogs associated with age. *Jikken Dobutsu*, 34 (4): 367-377, 1985.
- Ueda, S.; Fortune, V.; Bull, B.S.; Valenzuela, G.J.; Longo, L.D. Estrogen effects on plasma volume, arterial blood pressure, interstitial space, plasma protein and blood viscosity. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 155: 195-201, 1986.
- Ullrey, D.E.; Struthers, R.D.; Hendricks, D.G.; Brent, B.E. Composition of mare's milk. *J. Anim. Sci.*, 25: 217-222, 1966.
- Urata, H.; Nishimura, H.; Gante, D. Chymase dependent angiotensin II forming systems in humans. *Am. J. Hypertens.*, 9: 277-284, 1996.
- Valdés, G. Adaptaciones vasoactivas en la gestación normal y patológica. *Boletín Esc. Med.*, 30(2): 21-25, 2005.
- Valdés, G.; Germaín, A.M.; Brosnihan, K.B.; Berrios, C.; Corthorn, J.; Ferrario, C.M. Angiotensin (1-7) a novel vasodilator, is increased along normal human pregnancy. *Hypertension*, 36: 700-704, 2000.
- Valdés, G.; Germain, A.M.; Cortón, J.; Berrios, C.; Foradori, A.C.; Brosnihan, K.B. Urinary vasodilator and vasoconstrictor angiotensins during menstrual cycle, pregnancy and lactation. *Endocrine*, 16: 117-122, 2001.
- Valenzuela, G.J.; Longo, L.D. The relation of maternal blood volume to plasma renin activity in the pregnant rabbit. *J. Dev. Physiol.*, 7(2): 99-104, 1985.
- Valle, J. del; Wittwer, F.; Herve, M. Estudios de los perfiles metabólicos durante los periodos de gestación



- y lactancia en ovinos Romey. Arch. Med. Vet., Chile, 15: 65-72, 1983.
- Vallotton, M.B. Renin and aldosterone in human reproduction. 8<sup>th</sup> postgraduate course for training in Reproductive Medicine and Reproductive Biology. Geneva, Switzerland, 1987.
- Van de Ligt, J.L.G.; Lindemann, M.D.; Harmon, R.J.; Monegue, H.J.; Cromwell, G.L. Effect of chromium tripicolinate supplementation on porcine immune response during the periparturient and neonatal period. J. Anim. Sci., 80: 456-466, 2002.
- Van de Wiele, R.L.; Gurrpide, E.; Kelly, W.G.; Larga, J.R.; Lieberman, S. The secretory rate of progesterone and aldosterone in normal and abnormal late pregnancy. Advanced Abstracts of Short Communications, 1<sup>st</sup> Int. Congr. Endocr. Copenhage, pp. 159, 1960.
- Van den Eijnden, M.M.; Saris, J.J.; de Bruin, R.J.A.; de Wit, E.; Sluiter, W.; Reudelhuber, T.L.; Schalekamp, M.A.D.; Derkx, F.H.M.; Danser, A.H.J. Prorenin accumulation and activation in human endothelial cells. Importance of mammosome 6-phosphate receptors. Arteriosclerosis, Thromb. Vasc. Biol., 21: 911-916, 2001.
- Van der Kolk, J.H. Diseases of the pituitary gland, including hyperadrenocorticism. En: Metabolic and Endocrine Problems of the Horse. Watson, T.D. (ed.) W.B. Saunders. London, pp. 41-59, 1998.
- Van der Kolk, J.H.; Nachreiner, R.F.; Schott, H.C.; Refsal, K.R.; Zanella, A.J. Salivary and plasma concentration of cortisol in normal horses and horses with Cushing's disease. Equine Vet. J., 33(2): 211-213, 2001.
- Van der Kolk, J.H.; Wensin, T.; Kalsbeek, H.C.; Breukink, H.J. Laboratory diagnosis of equine pituitary pars intermedia adenoma. Domest. Anim. Endocrinol., 12: 35-39, 1995.
- Van Dijk, D.J.; Boner, G.; Giler, S.; Erman, A. Increased serum angiotensin converting enzyme activity and plasma angiotensin II levels during pregnancy and postpartum in the diabetic rat. J.R.A.A.S., 2: 193-198, 2001.
- Van Heerden, J.; Dauth, J.; Dreyer, M.J.; Nichas, E.; Marshall, C.; De Waal, D.T. Selected laboratory parameters of thoroughbreds. J. S. Afr. Vet. Assoc., 61(4): 155-158, 1990.
- Van Niekerk, C.H. The early diagnosis of pregnancy, the development of foetal membranes and nidation in the mare. J. S. Afr. Vet. Med. Assoc., 36: 483-488, 1965.
- Van Rodijnen, W.F.; van Lambalgen, T.A.; van Wijhe, M.H.; Tangelder, G.J.; Ter Wee, P.M. Renal microvascular actions of angiotensin II fragments. Am. J. Physiol. Renal Physiol., 283(1): 86-92, 2002.
- Venning, E.H.; Dyrenfurth, I.; Lowenstein, L.; Beck, J. Metabolic studies in pregnancy and the puerperium. J. Clin. Endocrinol., 19: 403, 1959.
- Verheyen, J.M.; Maes, D.; Mateusen, B.; Deprez, P.; Geert, P.J.; De Lange, L.; Counotte, G. Serum biochemical reference values for gestating and lactating sows. Vet. J., 174(1): 92-98, 2007.
- Verkeste, C.M.; Slangen, B.F.; Dubelaar, M.L.; Van Kreel, B.K.; Peeters, L. Mechanism of volume adaptation in the awake early pregnant rat. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 274: 1662-1666, 1998.
- Viana, R. B.; Birgel Júnior, E. H.; Ayres, M. C.; Benesi, F. J.; Mirandola, R. M.; Birgel, E. H. Influence of pregnancy and puerperium in the erythrogram of Saanen goats (*Capra hircus*), raised in the State of São Paulo, Brazil. Br. J. Vet. Res. Anim. Sci., 40(1): 178-184, 2003.
- Vincent, M.; Dessart, Y.; Annat, G.; Sassard, J.; Francois, R.; Cier, J.F. Plasma renin activity, aldosterone and dopamine  $\beta$ -hydroxylase activity as a function of age in normal children. Pediatr. Res., 14: 894-895, 1980.
- Vincent, P.A.; Addler, C.; Avila, C.; Guardia, D.C.; De Vito, E. Prorenin activation by an enzyme from rat plasma. Comp. Biochem. Physiol., 131: 201-207, 2002.
- Vinson, G.P.; Ho, M.M.; Puddefoot, J.R. The distribution of angiotensin II type 1 receptors, and the tissue renin angiotensin systems. Mol. Med., 1: 35-39, 1995.
- Vinson, G.P.; Saridogan, E.; Puddefoot, J.R. Tissue renin angiotensin systems and reproduction. Hum. Reprod., 12: 651-662, 1997.
- Vinson, G.P.; Whitehouse, B.J.; Etienne, T.; Morris, H.R. Characterization of an adrenal zona glomerulosa stimulating component of posterior pituitary extracts as alpha-MSH. Nature, 284: 464-467, 1980.
- Vrtacnik-Bokal, E.; Meden-Vrtovec, H.; Verdenik, I. Uterine arterial blood and the substances of ovarian renin angiotensin system in women with polycystic ovaries undergoing in vitro fertilization. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., 124(1): 77-81, 2006.
- Watanabe, M.; Meeker, C.I.; Gray, M.J.; Sims, E.A.; Solomon, S. Secretion rate of aldosterone in normal pregnancy. J. Clin. Invest., 42(10): 1619-1631, 1963.
- Watanabe, M.; Meeker, C.J.; Gray, M.J. Aldosterone secretion rates in abnormal pregnancy. J. Clin. Endocrinol. Metab., 25(12): 1665-1670, 1965.
- Webb, A.I.; Weaver, B.M. Body composition of the horse. Equine Vet. J., 11(1): 39-47, 1979.
- Weber, K.T. Aldosterone in congestive heart failure. N. Engl. J. Med., 345: 1689-1697, 2001.
- Weidmann, P.; de Chatel, R.; Schiffmann, A.; Bachmann, E.; Beretta-Piccoli, C.; Reubi, F.C.; Ziegler,

- W.H.; Vetter, W. Interrelations between age and plasma renin, aldosterone and cortisol, urinary catecholamines and the body sodium/volume state in normal man. *Klin. Wochenschr.*, 55(15): 725-733, 1977.
- Weidman, P.; de Mytanaere-Bursztein, S.; Maxwell, M.H.; Lima, J. Effect of aging on plasma renin and aldosterone in normal man. *Kydney Int.*, 8: 325-333, 1975.
- Weinberger, M.H.; Kramer, N.; Petersen, L.; Cleary, R.; Young, P. Sequential changes in the renin angiotensin aldosterone systems and plasma progesterone concentration in normal and abnormal human pregnancy. *Perspect Nephrol. Hypertens.*, 5: 263-269, 1976.
- Weinberger, M.H.; Kramer, N.J.; Grim, C.E.; Petersen, L.P. The effect of posture and saline loading on plasma renin activity and aldosterone concentration in pregnancy, non pregnant and estrogen treated women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 44:69-77, 1977.
- Weinberger, M.H.; Petersen, L.P.; Herr, M.J. Observations of the renin angiotensin aldosterone system in pregnancy. En: *Oral Contraceptives and High Blood Pressure*. Fregly, M.J.; Fregly, M.S. (eds.) Gainesville, Fla. Dolphin, pp. 237, 1974.
- Weir, R.J.; Brown, J.J., Fraser, R.; Lever, A.F.; Logan, R.W.; McIlwaine, G.M.; Morton, J.J.; Robertson, J.I.; Tree, M. Relationship between plasma renin, renin substrate, angiotensin II, aldosterone and electrolytes in normal pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 40(1): 108-115, 1975.
- Weir, R.J.; Doji, A.; Fraser, R.; Monton, J.J.; Parboosingh, J.; Robertson, J.I.; Wilson, A. Studies of the renin angiotensin aldosterone system, cortisol, DOC and ADH in normal and hypertensive pregnancy. En: *Hypertension in Pregnancy*. Lindheimer, M.D.; Katz, A.L.; Zuspan, F.R. (eds.) New York: John Wiley, pp. 251-261, 1976.
- Weir, R.J.; Paintin, D.B.; Brown, J.J.; Fraser, R.; Lever, A.F.; Robertson, J.; Young, J. A serial study in pregnancy of the plasma concentrations of renin, corticosteroids, electrolytes and proteins and of haematocrit and plasma volume. *J. Obst. Gynaecol.*, 78: 590-602, 1971.
- Weissgerber, T.L.; Wolfe, L.A. Physiological adaptation in early human pregnancy: adaptation to balance maternal fetal demands. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, 31: 1-11, 2006.
- West, J.B. *Bases Fisiológicas de la Práctica Médica*. 12ª ed. Panamericana, Williams & Wilkins, 1990.
- Whipp, G.T.; Coghlan, J.P.; Shulkes, A.A.; Skinner, S.L.; Wintour, E.M. Regulation of aldosterone in the rat. Effect of oestrous cycle, pregnancy, and sodium status. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 56: 545-551, 1978.
- Wickler, S.J.; Anderson, T.P. Hematological changes and athletic performance in horses in response to high altitude (3.000 m). *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 279(4): 1176-1181, 2000.
- Williams, G.H.; Hollenberg, N.K.; Braley, L.M. Influence of sodium intake on vascular and adrenal angiotensin II receptors *Endocrinology*, 98: 1343-1350, 1976.
- Williamson, L.H.; Andrews, F.M.; Maykuth, P.L.; White, S.L.; Green, E.M. Biochemical changes in three day event horses at the beginning, middle and end of Phase C and after Phase D. *Equine Vet. J. Suppl.*, 22: 92-98, 1996.
- Willmore J.H.; Costill D.L. Hormonal regulation of exercise. En: *Physiology of Sport and Exercise*. Willmore, J.H.; Costill, D.L.; Champaign, I.L. (eds.) Human Kinetics, Champaign (USA), pp. 122-143, 1994.
- Wilson, M.; Morganti, A.A.; Zervoudakis, I.; Letcher, R.I.; Romns, B.M.; Von Oeyon, P.; Papera, S.; Sealey, J.E.; Laragh, J.H. Blood pressure, the renin aldosterone system and sex steroids through normal pregnancy. *Am. J. Med.*, 68: 97-104, 1980.
- Winer, B.M. Renin in pregnancy and the menstrual cycle. *J. Clin. Invest.*, 44: 1112, 1965.
- Wintour, E.M.; Coghlan, J.P.; Oddie, C.J.; Scoggins, B.A.; Walters, W.A. A sequential study of adrenocorticosteroid level in human pregnancy. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 5: 399-403, 1978.
- Winter H. Stability of red blood cell counts, volume distribution curves, packed cell volumes, and hemoglobin concentrations in stored ovine blood. *Am. J. Vet. Res.*, 29 (10): 2017-2022, 1968.
- Wintrobe, M.M. *Clinical haematology*. 7ª ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1974.
- Wong, P.Y.D.; Uchendu, C.N. The role of angiotensin converting enzyme in the rat epididymis. *J. Endocrinol.*, 125: 457-465, 1990.
- Wu, S.J.; Tsai, Y.L.; Hsieh, B.S. Sequential changes in plasma renin activity and aldosterone level during pregnancy. *J. Formos Med. Assoc.*, 9(10): 932-935, 1991.
- Wu, S.J.; Tsai, Y.L.; Hsieh, B.S. Plasma renin activity, aldosterone level, serum and urinary electrolytes in normal pregnant women aged 35 and older. *J. Formos Med. Assoc.*, 91(3): 366-369, 1992.
- Yamada, T.; Hiriuchi, M.; Dzau, V.J. Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 93: 156-160, 1996.
- Yamamoto, K.; Chappell, M.C.; Brosnihan, K.B.; Ferrario, C.M. In vivo metabolism of angiotensin I by neutral endopeptidase (EC 3.4.24.11) in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 19: 692-696, 1992.
- Yashiki, K.; Kusunose, R.; Takagi, S. Diurnal variations of blood constituents in young thoroughbred horses. *J. Equine Sci.*, 6 (3): 91-97, 1995.

- Yen, S.S.C. Endocrine metabolic adaptations in pregnancy. En: Reproductive Endocrinology. 3<sup>rd</sup> ed. Yen, S.S.C.; Jafee, R.B. (eds.) WB Saunders Company, Philadelphia U.S.A., 1991.
- Yokus, B.; Cakir, U.D. Seasonal and physiological variations in serum chemistry and mineral concentrations in cattle. Biol. Trace Elem. Res. 109(3): 255-266, 2006.
- Yoshimura, Y. The ovarian renin angiotensin system in reproductive physiology. Front. Neuroendocrinol., 18: 247-291, 1997.
- Yu, T.; Khraibi, A.A. Renal interstitial hydrostatic pressure and natriuretic response to high doses of angiotensin II in pregnant rats. Am. J. Hypertens., 19: 300-305, 2006.
- Zaman, G.; Goswami, R.N.; Das, D.; Aziz, A. Effect of age and sex on serum sodium and potassium levels in swamp buffaloes of Assam. Indian Vet. J., 81(1): 93-95, 2004.
- Zambraski, E.J. Renal regulation of fluid homeostasis during exercise. En: Perspectives in Exercise Science and Sports Medicine. Fluid homeostasis During Exercise. Vol. 3. Gisolfi, C.V.; Lamb, D.R. (eds.) Indianapolis. Benchmark Press, pp. 247-280, 1990.
- Zavy, M.T.; Vernon, M.W.; Sharp, D.C.; Bazer, F.W. Endocrine aspects of early pregnancy in pony mares: a comparison of uterine luminal and peripheral plasma levels of steroids during the estrous cycle and early pregnancy. Endocrinology, 115(1): 214-219, 1984.
- Zhao, X.X.; Chen, B.X. Peripartal endocrine changes in camels. J. Camels Pract. Res., 2(2): 123-124, 1995.
- Zheng, J.; Bird, I.M.; Chen, D.B.; Magness, R.R. Angiotensin II regulation of ovine fetoplacental artery endothelial functions: interactions with nitric oxide. J. Physiol., 565(1): 59-69, 2005.
- Zhuo, J.; Ohishi, M.; Mendelsohn, F.A. Roles of AT1 and AT2 receptors in the hypertensive ren 2 gene transgenic rat kidney. Hypertension, 33(1-2): 347-353, 1999.
- Zinkl, J.; Mae, D.; Guzman, P.; Farver, T.; Humble, J. Reference ranges and the influence of age and sex on hematologic and serum biochemical values in donkeys (*Equus asinus*). Am. J. Vet. Res., 51(3): 408-413, 1990.
- Zozaya, J.L.; Vilorio, M.P.; Castro, A. The effect of age on the renin angiotensin aldosterone systems and other physiological variables in normal subjects. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 42(3): 463-470, 1983.
- Zvorc, Z.; Mrljak, V.; Susic, V.; Gotal, J.P. Haematological and biochemical parameters during pregnancy and lactation in sows. Veterinarski Arhiv, 76(3): 245-253, 2006.