

PARTICULARIDADES DEL CICLO ESTRAL CANINO. ASPECTOS CLÍNICOS Y ENDOCRINOLÓGICOS

ESTROUS CYCLE FEATURES IN THE BITCH. CLINICAL AND ENDOCRINOLOGICAL ASPECTS

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

Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad Nacional de La Plata.

Resumen

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

Abstract

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

Palabras clave endocrinología, perra, ciclo estral.

Key Words endocrinology, bitch, oestrus cycle.

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

Introducción

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

Hormonas de la Adenohipófisis

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

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

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

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

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

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

Hormonas Gonadales

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

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

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

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

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

Ciclo Estral

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Proestro

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

Signos clínicos

Durante el proestro, la perra usualmente atrae al macho

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

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

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

Hallazgos en la vaginoscopia

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

Modificaciones hormonales

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

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

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

Citología vaginal

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

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

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

Estro

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

Signos clínicos

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

crecimiento) inducida por la progesterona (12).

Hallazgos en la vaginoscopia

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

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

Modificaciones hormonales

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

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

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

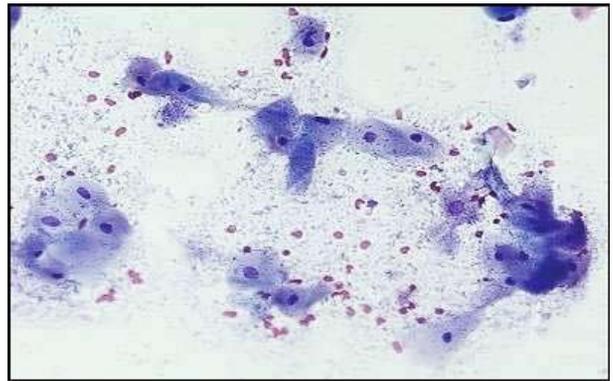


Foto 1

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

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

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

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

Citología vaginal

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

Diestro

Signos clínicos

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

Hallazgos en la vaginoscopia

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

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

Modificaciones hormonales

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

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

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

Citología vaginal

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

Anestro

Signos clínicos

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

Hallazgos en la vaginoscopia

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

Cambios hormonales

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

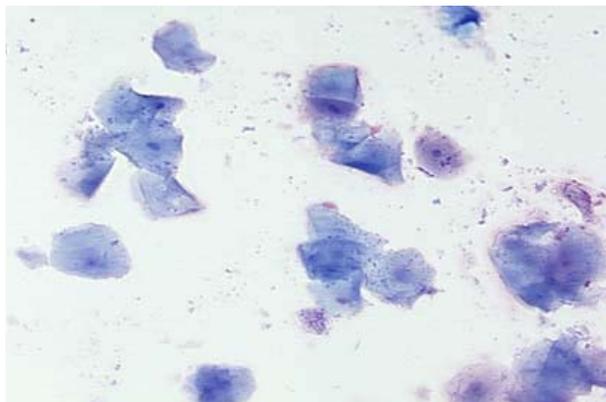


Foto 2

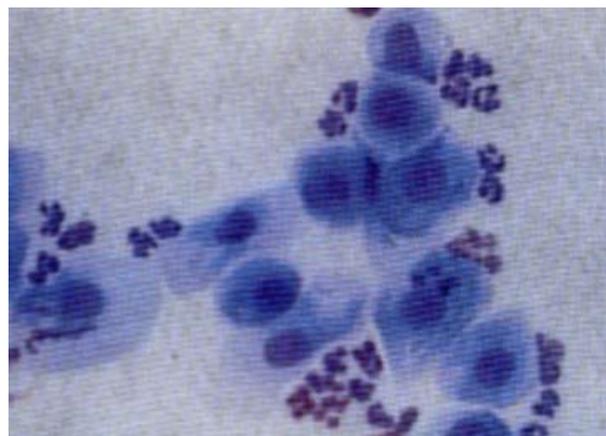


Foto 3

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

Citología vaginal

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

Conclusiones

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

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

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

Bibliografía

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

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