



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



**DETERMINACIÓN DE HORMONAS TIROÍDEAS EN EQUINOS FINA
SANGRE DE CARRERA EN TRAINING PARA LA EVALUACIÓN DE LA
FUNCIONALIDAD DE LA GLÁNDULA TIROIDES**

FRANÇOISE BARBÉ ABRIGO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario.
Departamento de Ciencias Clínicas.

PROFESOR GUÍA: DR. ENRIQUE PINTO PEÑA

Santiago, Chile
2009



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



**DETERMINACIÓN DE HORMONAS TIROÍDEAS EN EQUINOS FINA
SANGRE DE CARRERA EN TRAINING PARA LA EVALUACIÓN DE LA
FUNCIONALIDAD DE LA GLÁNDULA TIROIDES**

FRANÇOISE BARBÉ ABRIGO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario.
Departamento de Ciencias Clínicas.

NOTA FINAL: _____

		NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA:	ENRIQUE PINTO P.	_____	_____
PROFESOR CONSEJERO:	ADOLFO GODOY P.	_____	_____
PROFESOR CONSEJERO:	ANA MARIA RAMIREZ K.	_____	_____

**Santiago, Chile
2009**

TABLA DE CONTENIDOS

TABLA DE CONTENIDOS	i
AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN.....	iv
SUMMARY	v
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
Anatomía e histología de la glándula tiroides.....	3
Formación y secreción de las hormonas tiroideas	8
Funciones de las hormonas tiroideas en los tejidos.....	14
Regulación de la secreción de hormona tiroidea	18
Enfermedades de la glándula tiroides en el equino	22
Diagnóstico de la disfunción tiroidea en equinos.....	26
OBJETIVOS	30
Objetivo general.....	30
Objetivos específicos	30
MATERIAL Y MÉTODOS	31
Grupos experimentales	31

Toma de muestras	32
Métodos para análisis control sano.....	32
Métodos para análisis hormonales.....	34
Análisis estadístico.....	35
RESULTADOS	38
Determinación de la influencia del factor sexo en la cuantificación sérica de las hormonas T_3 , T_4 , fT_3 y fT_4	38
Establecimiento de intervalos de referencia para las hormonas T_3 , T_4 , fT_3 y fT_4 en equinos FSC en <i>training</i>	38
DISCUSIÓN	44
CONCLUSIÓN	46
BIBLIOGRAFÍA.....	47
ANEXOS	47

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi familia. A mis padres, por alentarme orgullosamente en cualquier proyecto que emprendo.

A mi hermana Karen, por todas las ilustraciones que me ha hecho y su disposición a hacer aún más.

A mi hermano Mario, por compartir sus conocimientos conmigo y prestarme sus textos.

A Francisco, por apoyarme en todo desde el primer día, por motivarme, por todo el amor que me entrega.

A mis amigos, Constanza, Paola, Rafael y Américo, por estar siempre presentes, particularmente a este último, con quien hemos hecho este camino juntos.

A mi profesor guía, por todas las tardes y conversaciones que compartimos, por todo lo que me ha enseñado, por esperarme.

A Paulina, por guiarme.

A todos los que hicieron posible que esta memoria de título se llevara a cabo, el Laboratorio LQCE y los corrales de Rodolfo Valdivieso, Pedro Inda y Oliverio Martínez.

RESUMEN

Con el objetivo de establecer los valores de referencia necesarios para evaluar la glándula tiroidea en equinos, se midieron las concentraciones de triyodotironina total y libre (T_3 y fT_3), y de tiroxina total y libre (T_4 y fT_4) mediante radioinmunoensayo en el suero de 43 caballos Fina Sangre de Carrera (FSC) en *training*. Las muestras provienen de 23 machos castrados y 20 hembras, todos clínicamente sanos, de entre 2 y 5 años de edad pertenecientes a distintos corrales del Club Hípico de Santiago.

Las concentraciones medias de hormonas tiroideas de las hembras (70,2 ng/ml T_3 ; 7,39 pg/ml fT_3 ; 1,23 μ g/dl T_4 ; 1,01 ng/dl fT_4) tendieron a ser mayores a las de los machos (56,7 ng/ml T_3 ; 6,13 pg/ml fT_3 ; 1,21 μ g/dl T_4 ; 0,94 ng/dl fT_4). Sin embargo, al realizar la prueba de t para dos muestras independientes se determinó que no existían diferencias significativas entre ambos grupos.

Los intervalos de referencia, calculados con un 95% de confianza, para hormonas tiroideas en equinos FSC de 2 a 5 años en *training* son 53,14 – 72,66 ng/ml T_3 ; 5,77 – 7,67 pg/ml fT_3 ; 1,08 – 1,36 μ g/dl T_4 ; y 0,87 – 1,07 ng/dl fT_4 .

SUMMARY

Total and free fractions of triiodothyronine (T_3 and fT_3) and thyroxine (T_4 and fT_4) were measured in the serum of 43 clinically healthy Thoroughbred horses in training by a radioimmunoassay procedure, in order to establish the normal values needed to assess the thyroid gland in horses. Blood was collected from 23 geldings and 20 mares (2 to 5 years old) of Club Hipico de Santiago.

Mares had higher mean serum concentrations of thyroid hormones (70.2 ng/ml T_3 ; 7.39 pg/ml fT_3 ; 1.23 μ g/dl T_4 ; 1.01 ng/dl fT_4) as compared to the values in geldings (56.7 ng/ml T_3 ; 6.13 pg/ml fT_3 ; 1.21 μ g/dl T_4 ; 0.94 ng/dl fT_4). However, no differences between both groups were determined by the t-test for two independent samples.

Thyroid hormones normal values in Thoroughbred horses of 2 to 5 years old in training with a 95% confidence level are 53.14 – 72.66 ng/ml T_3 ; 5.77 – 7.67 pg/ml fT_3 ; 1.08 – 1.36 μ g/dl T_4 ; and 0.87 – 1.07 ng/dl fT_4 .

INTRODUCCIÓN

La glándula tiroides secreta dos hormonas importantes: tiroxina (T_4) y triyodotironina (T_3), las cuales tienen un importante rol en el crecimiento, la maduración orgánica y sistémica, y la regulación metabólica del organismo.

La enfermedad de la tiroides está poco descrita en el equino, y aunque se han informado casos de hipotiroidismo, prácticamente no existen comunicaciones de casos de hipertiroidismo.

El diagnóstico de estas enfermedades se basa en los signos clínicos y en las concentraciones en suero de hormonas tiroideas. Los cuadros de disfunción de la glándula tiroides cursan con una signología inespecífica y vaga. Entonces, se hace indispensable el uso de herramientas diagnósticas complementarias, principalmente la evaluación de las concentraciones de hormonas tiroideas en el suero sanguíneo. En la actualidad, la mejor técnica disponible para evaluar la funcionalidad de la glándula tiroides en el caballo es la medición sérica de las concentraciones basales totales de T_3 y T_4 , y de sus fracciones libres (fT_3 y fT_4). En humanos, la medición de las concentraciones de hormonas tiroideas como prueba de tamizaje o *screening* para el diagnóstico de hipotiroidismo ha sido reemplazada por la medición de las concentraciones en suero de tirotropina (TSH). Medir esta hormona en el paciente equino permitiría confirmar los resultados encontrados al evaluar las concentraciones de hormonas tiroideas y diferenciar, al compararlas con las concentraciones de TSH equina (eTSH), entre un cuadro de hipotiroidismo primario, originado propiamente en la tiroides, y uno secundario, por falla en la secreción de TSH desde la adenohipófisis.

En la práctica de la clínica equina, a nivel nacional, aún no se cuenta con intervalos de referencia validados o valores normales para las concentraciones de hormonas tiroideas en equinos. La obtención de dichos intervalos permitiría contar con una herramienta de apoyo al diagnóstico, seguimiento y pronóstico en el manejo de las enfermedades tiroideas en equinos.

Este estudio medirá la concentración sanguínea de T₃ y T₄ total, y de T₃ y T₄ libre en una población clínicamente sana de equinos Fina Sangre de Carrera (FSC) en *training* de la Región Metropolitana, y establecerá los intervalos de referencia de las diferentes mediciones hormonales en suero equino.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El sistema endocrino ha evolucionado para permitir la coordinación y regulación de los procesos fisiológicos a través de mensajeros químicos llamados hormonas. Las hormonas se han definido tradicionalmente como productos químicos sintetizados en órganos endocrinos específicos, transportados por el sistema vascular y capaces de actuar sobre órganos diana distantes a bajas concentraciones (**Cunningham, 2003**).

La tiroides fue la primera glándula endocrina reconocida como tal. La observación de que su ausencia o su aumento de tamaño guardaba relación con alteraciones biológicas en zonas corporales distantes hizo sospechar que la glándula producía una sustancia transportada hasta los tejidos de destino a través de la sangre. Más adelante, se demostró que extractos de glándula tiroides corregían el llamativo estado patológico provocado por su ausencia (**Levy et al., 2006**).

La glándula tiroides produce dos hormonas, tiroxina (T_4) y triyodotironina (T_3) a un ritmo bastante constante. Estas hormonas aumentan el ritmo basal de utilización de oxígeno (O_2) y el índice metabólico basal, así como la tasa correspondiente de producción de calor, para adaptarlas a las alteraciones de las necesidades energéticas, del abastecimiento calórico y del ambiente térmico. Las hormonas tiroideas modulan de modo concordante el aporte de los sustratos y el O_2 por parte del sistema respiratorio y cardiovascular, necesarios para mantener el metabolismo en sus dianas tisulares. Sus acciones son básicas para el crecimiento y la maduración normal del feto y del infante. Prácticamente todos los sistemas de órganos descritos en el cuerpo reciben la influencia de las hormonas tiroideas (**Levy et al., 2006**).

Anatomía e histología de la glándula tiroides

La glándula tiroides se origina en un engrosamiento mediano de la parte del piso de la faringe que contribuye a la formación de la lengua. El primordio se extiende en

dirección caudal sobre la superficie ventral de la tráquea antes de dividirse en su vértice en prolongaciones divergentes que se extienden dorsolateralmente para llegar al límite comprendido entre la tráquea y el esófago (ver **Figura 1**). En la mayoría de los mamíferos la conexión con la lengua en vías de desarrollo, o conducto tirogloso, nunca es patente y luego involuciona por entero (**Dyce et al., 1998**).

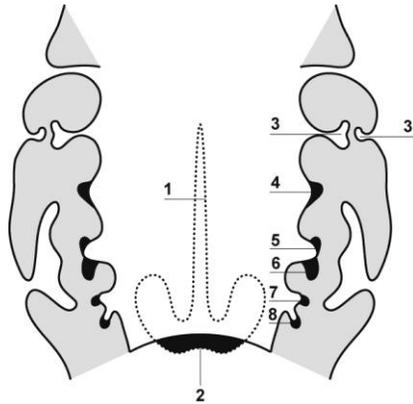


Figura 1 Primordios faríngeos de ciertas estructuras endocrinas (vista dorsal esquemática). 1, conducto tirogloso; 2, glándula tiroidea; 3, primera bolsa faríngea; 3', meato acústico externo; 4, amígdala palatina (segunda bolsa); 5, paratiroides III; 6, timo; 7, paratiroides IV; 8, cuerpo ultimobranquial (**Dyce et al., 1998**).

En la mayoría de los mamíferos, la glándula tiroidea se localiza en posición caudal a la tráquea, a la altura del primer o segundo anillo traqueal (**Cunningham, 2003**). En el equino, esta también se encuentra localizada sobre la parte más craneal de la tráquea, a la cual se encuentra íntimamente unida por una fascia cervical profunda. La glándula es de color rojo oscuro, firme en textura y altamente vascularizada. En general, está compuesta de dos lóbulos laterales conectados por un istmo fibroso estrecho (ver **Figura 2**) (**Getty, 1999**).

Los lóbulos laterales están situados a los lados de la tráquea inmediatamente caudales a la laringe. Su posición aproximada está indicada por el ángulo de unión de las venas yugular y linguofacial. En el adulto, cada lóbulo es oval en su contorno y

aproximadamente tiene 5 cm de longitud, unos 1,5 a 2 de ancho y, en la parte oval más ancha, alcanza 2,7 cm. Cada lóbulo pesa, aproximadamente, unos 15 g. La superficie lateral es convexa y está cubierta por el ángulo cervical de la glándula parótida y los músculos esternocefálico y omohioideo. La superficie profunda de cada lóbulo está relacionada con los primeros tres o cuatro anillos traqueales (**Getty, 1999**).

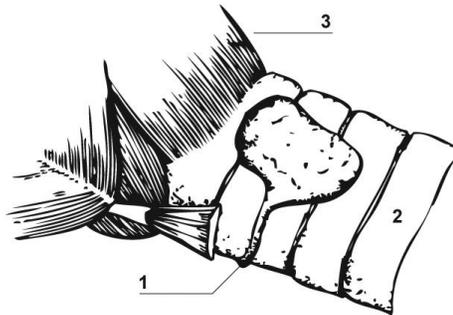


Figura 2 Glándula tiroides del equino. 1, istmo; 2, tráquea; 3, músculo cricofaríngeo (**Dyce et al., 1998**).

Existen variaciones referentes a la localización caudal de cada lóbulo respecto a la laringe. El lóbulo derecho puede contactar con el músculo cricofaríngeo o el cricotiroideo, o está situado a unos 2 cm caudal de la laringe. El lóbulo izquierdo puede estar en contacto con la laringe o situarse unos 2,5 cm caudal al cartílago cricoides. Los nódulos linfáticos cervicales craneales se localizan cerca de la glándula, están cubiertos por el ángulo cervical de la glándula parótida. Estos nódulos linfáticos pueden aparecer entre el cuerpo de la tiroides y la glándula mandibular o por encima de ella y, parcialmente, sobre su cuerpo. El polo craneal de la tiroides es mayor y redondeado, mientras que el polo caudal es más pequeño y, usualmente, termina en una prolongación semejante a una cola, que se continúa con el istmo fibroso (**Getty, 1999**).

El istmo, normalmente, se extiende a través de la superficie ventral de la tráquea y, por tanto, se conecta con los dos lóbulos tiroideos. En el caballo adulto, el istmo está formado de una banda delgada de tejido conectivo fibroso. En el potrillo, el istmo está

bien desarrollado y es enteramente glandular. En el asno y el mulo, usualmente, hay un istmo bien desarrollado. No es raro observar un istmo glandular completo en el caballo adulto. Puede que ocurran variaciones en la inserción del istmo a cada uno de sus lóbulos y en la zona traqueal que cruza. Se ha indicado que los istmos pueden cruzar la tráquea entre los lóbulos tan caudalmente como el espacio que existe entre el noveno y décimo anillos traqueales (**Getty**, 1999).

La glándula tiroides está muy vascularizada, recibe sangre arterial de la arteria tiroídea craneal o de la tirolaríngea, la rama más colateral de la carótida común. La arteria tiroídea craneal nace unos 5 a 7,5 cm antes de la división de la carótida, se curva sobre el polo craneal de la tiroides y envía ramas hacia el interior de la glándula. La arteria tiroídea caudal es un vaso más pequeño e inconstante, que se ramifica a partir de la carótida común a una variable distancia caudal a la arteria tiroídea craneal. Esta arteria puede también proceder de la tiroídea craneal o de la parótida. Las ramas entran en el polo caudal de la glándula; algunas irrigan la glándula y otras van a los músculos adyacentes. En algunas ocasiones, la arteria tiroídea caudal puede irrigar todos los músculos adyacentes. Las venas tiroídeas se unen a la yugular cerca de la vena linguofacial. Reciben ramas de la vena tiroídea craneal, ocasionalmente de la tiroídea caudal, de la laríngea y de la faríngea. Los vasos linfáticos drenan en los nódulos linfáticos cervicales, mientras la inervación está constituida por el sistema nervioso autónomo (**Getty**, 1999).

La glándula tiroides está rodeada por una fina cápsula de tejido conjuntivo denso irregular a partir de la cual penetran trabéculas hacia el parénquima. El tejido conjuntivo laxo intersticial es escaso y contiene densas redes de capilares sinusoides y linfáticos. El tejido glandular de la tiroides tiene células dispuestas en un círculo llamado folículo. Los folículos, de 20 a 500 μm de diámetro, están rellenos de una sustancia de consistencia homogénea denominada coloide y revestidos por las células foliculares. La estructura de los folículos refleja las diversas condiciones fisiológicas. Cuando la secreción es basal, el epitelio simple es cúbico bajo o incluso plano, y el coloide aparece denso y uniformemente teñido. Cuando se estimulan para liberar hormonas, las células se transforman en cúbicas o cilíndricas, y el coloide no se tiñe uniformemente y a menudo contiene vacuolas periféricas pues está siendo reabsorbido (**Dellmann**, 1994; **Cunningham**, 2003; **Levy et al.**, 2006).

El coloide folicular se tiñe tanto con colorantes ácidos como básicos; es PAS-positivo (PAS, ácido peryódico de Schiff) debido a su contenido de tiroglobulina, una glicoproteína yodada que es la principal forma de almacenamiento de las hormonas tiroideas (**Dellmann y Eurell, 1998**).

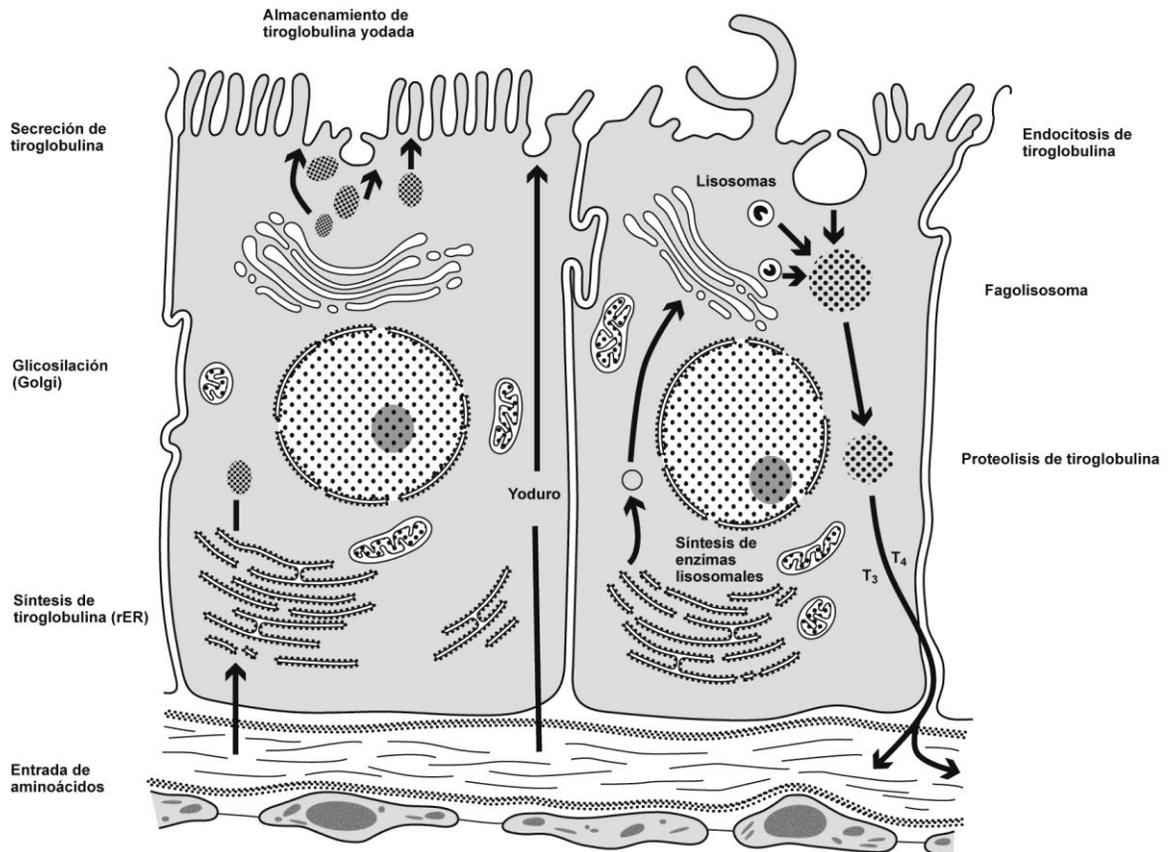


Figura 3 Dibujo esquemático de las células foliculares, y la biosíntesis de tiroglobulina (izquierda) y su reabsorción y proteólisis (derecha). Con fines didácticos, se muestran los eventos en células distintas, pero ocurren en una misma célula (**Dellmann y Eurell, 1998**).

Las células foliculares activas tienen una marcada polaridad estructural (ver **Figura 3**). El núcleo se localiza en el polo basal. A través del citoplasma se distribuyen las mitocondrias, RER (retículo endoplásmico rugoso), ribosomas y polisomas. El complejo de Golgi se encuentra entre el núcleo y las microvellosidades de la superficie apical de la

célula. El citoplasma apical contiene también dos tipos de vesículas: las vesículas apicales, que se originan del complejo de Golgi y contienen tiroglobulina, que es secretada por exocitosis a la luz folicular, y las gotitas coloidales, que son grandes y están rodeadas por una membrana. Estas gotitas provienen de la captación por pseudópodos que se forman en la superficie luminal y se fusionan con lisosomas para formar fagolisosomas, en los cuales la tiroglobulina es descompuesta (**Dellmann**, 1994).

Las células parafoliculares o células C derivan de la cresta neural. Pertenecen al sistema APUD (*amine precursor uptake and decarboxylation*) de células endocrinas. Generalmente aparecen como células aisladas encerradas en la lámina basal de los folículos, pero también pueden formar grupos en la misma localización o fuera de los folículos. Estas células son la fuente de calcitonina o tirocalcitonina y se caracterizan por su citoplasma pálido, RE (retículo endoplásmico) pequeño, complejo de Golgi bien desarrollado, muchas mitocondrias y sobre todo numerosas vesículas pequeñas rodeadas por una membrana (**Dellmann y Eurell**, 1998).

Formación y secreción de las hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas son las únicas que incorporan un elemento inorgánico, el yodo, en una estructura orgánica formada por dos moléculas del aminoácido tirosina. Los productos segregados por la glándula tiroidea se conocen como yodotironinas. El principal producto es la 3,5,3',5'-tetrayodotironina, conocida como tiroxina y representada como T₄. Esta molécula actúa en gran medida como prohormona circulante. La 3,5,3'-triyodotironina se segrega en cantidad mucho menor, se conoce simplemente como triyodotironina y se representa como T₃. Esta molécula, que ejerce casi toda la actividad hormonal en las dianas celulares, se produce principalmente en diversos tejidos mediante el aporte circulatorio de la prohormona T₄ (**Levy et al.**, 2006).

La síntesis de las hormonas tiroideas no es habitual, ya que una gran cantidad de la hormona activa se almacena como coloide en el exterior de las células foliculares, en el lumen o acino creado por la disposición circular de las células glandulares (**Cunningham**, 2003).

La síntesis de hormonas tiroideas se realiza en tres fases principales:

1. Captación y concentración del yodo dentro de la glándula.
2. Oxidación e incorporación del yodo al anillo fenol de la tirosina.
3. Acoplamiento de dos moléculas de tirosina yodada para formar T_4 o T_3 (**Levy et al.**, 2006).

El metabolismo del yoduro es un componente intrínseco de la síntesis de las hormonas tiroideas. El yodo es un elemento dietético esencial debido a su función tiroidea; este se convierte en yoduro en el intestino, desde donde se transporta a la tiroides. El yoduro es transportado activamente al interior de la glándula en contra de su gradiente químico y eléctrico por un sistema cotransportador Na^+I^- localizado en la membrana basal de las células. Este proceso, conocido como atrapamiento de yoduro, mantiene elevada su concentración glandular en forma libre con relación al yoduro plasmático, permitiendo que las concentraciones intracelulares de yoduro sean de 25 a 200 veces superior a las extracelulares (**Cunningham**, 2003; **Levy et al.**, 2006).

El proceso de yodación de la tirosina se lleva a cabo con una proteína de almacenamiento denominada tiroglobulina. La tiroglobulina es una gran glicoproteína (peso molecular 660.000 D) que se sintetiza en forma de dos unidades peptídicas independientes. Ambas se combinan y son glicosiladas al pasar por el aparato de Golgi. La proteína completa, incorporada a pequeñas vesículas, se desplaza hacia la membrana apical y de ahí hacia la luz folicular adyacente (ver **Figura 4**). Precisamente en el seno de la luz folicular, el yoduro se incorpora a determinadas moléculas de tirosina en lugares específicos dentro de la tiroglobulina. Unido a la membrana apical y atravesándola existe un complejo enzimático, conocido como peroxidasa tiroidea. Esta enzima hemoproteica cataliza simultáneamente la oxidación del yoduro y su colocación en lugar de un hidrógeno del anillo de benceno de la tirosina (**Levy et al.**, 2006). El anillo tirosilo puede incorporar dos moléculas de yoduro; si sólo se une una molécula de yoduro se denomina monoyodotirosina (MIT), y si lo hacen las dos se llama diyodotirosina (DIT) (**Cunningham**, 2003).

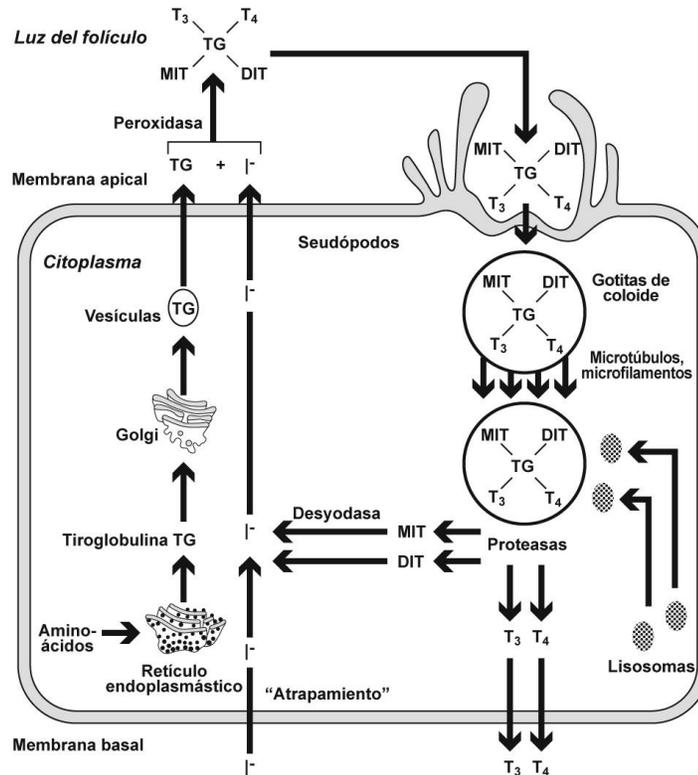


Figura 4 Síntesis y liberación de las hormonas tiroideas. La síntesis de T_4 y T_3 se produce dentro de la molécula proteica tiroglobulina (TG), en el borde entre el citoplasma y la luz folicular. La recuperación de la hormona almacenada requiere endocitosis del coloide, seguida de su proteólisis intracitoplasmática por lisosomas. El yoduro de las moléculas precursoras MIT (monoyodotirosina) y DIT (diyodotirosina) se recupera por acción de la enzima desyodasa (Levy *et al.*, 2006).

La fase de acoplamiento de dos tirosinas yodadas también tiene lugar en la tiroglobulina a través de la misma enzima, la peroxidasa. Una molécula de DIT se yuxtapone a otra molécula de DIT para formar T_4 , o a una molécula de MIT para formar T_3 (ver **Figura 5**). La estructura terciaria de la tiroglobulina facilita esta yuxtaposición (Levy *et al.*, 2006).

Una vez yodada la tiroglobulina, se almacena en el folículo en forma de coloide. La liberación a la sangre de la T_3 y T_4 unidas por enlaces peptídicos requiere la recuperación de la tiroglobulina, que pasa de la luz folicular al interior de la célula endocrina mediante micropinocitosis o endocitosis (ver **Figura 4**). En este proceso, la membrana celular forma

seudópodos que engloban una porción de coloide, que se separa del resto de la membrana celular y se convierte en una gotita de coloide intracitoplasmática. La gotita se dirige en sentido basal, probablemente por la acción de los microtúbulos y los microfilamentos. Al mismo tiempo, los lisosomas se desplazan desde la base hacia el vértice de la célula y se fusionan con las gotitas de coloide. Las proteasas lisosómicas liberan entonces T₄ y T₃ libres, que salen de la célula a través de la membrana basal y pasan a la sangre capilar adyacente. Las moléculas de MIT y DIT no acopladas, liberadas también de la tiroglobulina, son rápidamente desyodadas dentro de la célula por la enzima desyodasa. Dado que estos compuestos son metabólicamente inactivos y al segregarse se perderían con la orina, su desyodación conserva el yoduro para reciclarlo en la síntesis hormonal (**Levy et al.**, 2006).

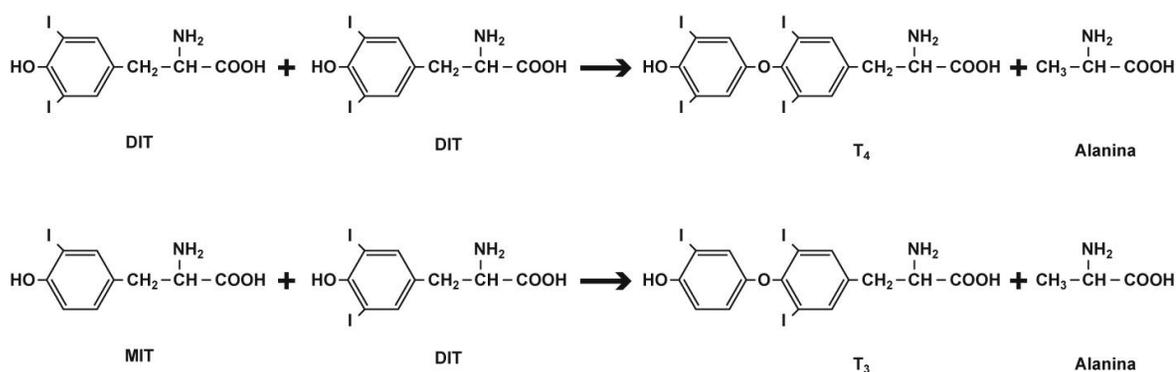


Figura 5 Producción de tetrayodotironina (T₄) y triyodotironina (T₃) mediante el acoplamiento de residuos tirosilo yodados a la molécula de tiroglobulina. DIT, diyodotirosina; MIT, monoyodotirosina (**Cunningham**, 2003).

La mayor parte de la formación de T₃ se produce fuera de la glándula tiroides por desyodación de la T₄ (ver **Figura 6**). Los tejidos con una mayor concentración de enzimas desyodadoras son el hígado y los riñones, aunque el tejido muscular produce más T₃ en función de su tamaño relativo. La enzima implicada en la retirada del yoduro del anillo fenólico externo de T₄ en la formación de T₃ se llama 5'-monodesyodasa (**Cunningham**, 2003). Un producto segregado insignificante, que se forma al retirar una molécula de yodo

del anillo fenólico interno de la T_4 , sin acción hormonal identificada, es la 3,3',5'-triyodotironina. Se conoce como T_3 inversa (rT_3) porque difiere de la T_3 sólo en la localización de uno de los tres átomos de yodo. Esta molécula inactiva es un derivado alternativo de la prohormona T_4 , y se produce cuando las necesidades de acción hormonal tiroidea son menores y sólo por la acción de las enzimas desyodadoras extratiroideas y no por la actividad de la tiroides (**Levy et al., 2006**).

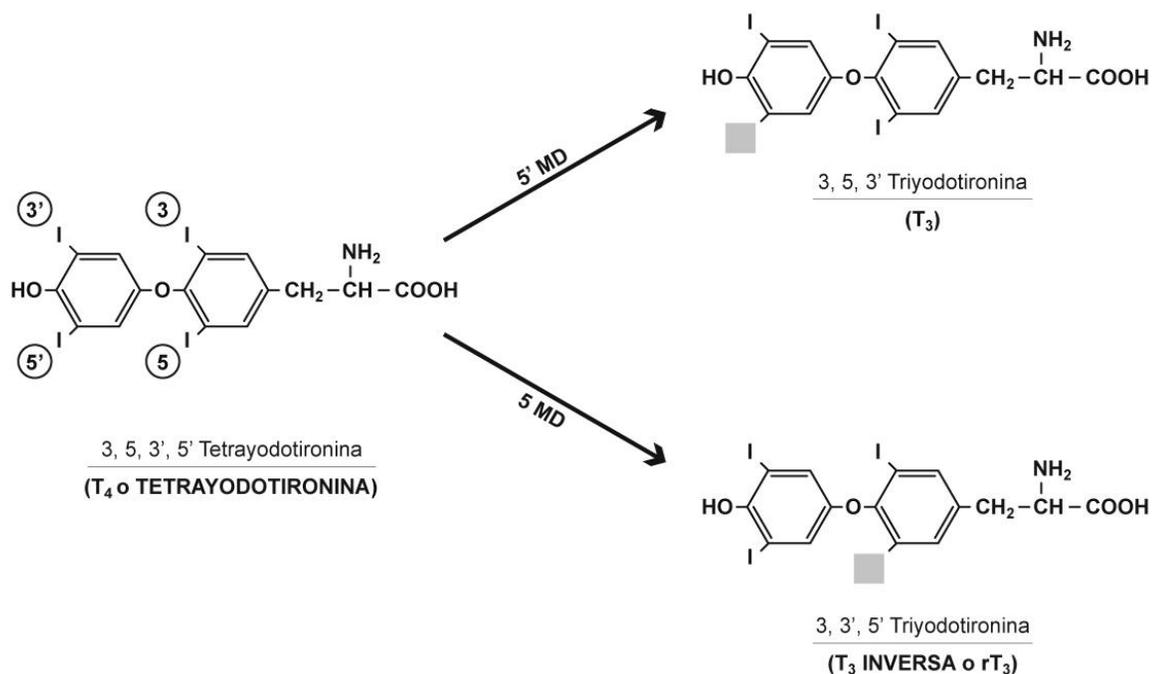


Figura 6 Estructura y nomenclatura de la tiroxina, y su conversión en las dos triyodotironinas por la 5'-monodesyodasa y la 5-monodesyodasa (MD). Los recuadros sombreados indican los lugares de desyodación (**Cunningham, 2003**).

Las hormonas liposolubles se transportan en el sistema vascular mediante su asociación con proteínas ligantes plasmáticas específicas. Existe una variación considerable entre especies en las proteínas que ligan hormonas tiroideas. La proteína transportadora más importante es la TBG (*thyroxine-binding globulin*), cuya afinidad por la T_4 es elevada, aunque también tiene baja capacidad transportadora por su baja concentración. La TBG es

a su vez una importante transportadora de T_3 . La albúmina también está implicada en el transporte de hormonas tiroideas; sin embargo, tiene baja afinidad por T_3 y T_4 , pero una alta capacidad de transporte a causa de su alta concentración en plasma. En ausencia de TBG, la albúmina es la transportadora más importante de las hormonas tiroideas. Todas las especies tienen una tercera proteína plasmática, la prealbúmina ligante de tiroxina o transtiretina, que es específica para T_4 y tiene una especificidad y capacidad que son intermedias entre las de la TBG y la albúmina. El término prealbúmina se refiere a la migración de la proteína durante la electroforesis, no a la síntesis de la molécula (**Cunningham, 2003**).

Como con todas las hormonas liposolubles transportadas en el plasma, la mayor parte de T_3 y T_4 se encuentra ligada; una pequeña parte está libre para interactuar con los receptores en las células de los tejidos diana. El equilibrio entre la hormona libre y ligada se desplaza con facilidad debido a situaciones fisiológicas o farmacológicas. Los ajustes para mantener una cantidad normal de hormona libre se producen con rapidez con un descenso en la tasa de metabolismo o con estimulación de la producción de la hormona tiroidea mediante la liberación de TSH (**Cunningham, 2003**).

Uno de los aspectos sorprendentes de las hormonas tiroideas es su larga semivida; la de la T_3 es de 1 día y la de la T_4 de 6 a 7 días, mientras que otras hormonas tienen semividas de segundos o minutos. Una razón para estas semividas tan largas es el gran porcentaje de tironinas circulantes que se encuentran ligadas a las proteínas plasmáticas, lo que las protege de la degradación. La diferencia de las semividas de T_3 y T_4 se debe a la mayor unión a proteínas de T_4 en comparación con T_3 , y la consiguiente reducción en la hormona libre circulante; aproximadamente el 0,5% de toda la T_3 se encuentra en la forma de fT_3 comparado con el 0,05% de la T_4 . La T_3 libre es, entonces, diez veces más abundante de forma relativa al considerar la concentración total de hormona T_3 que la fT_4 en relación a T_4 (**Frank et al., 2002**).

Funciones de las hormonas tiroideas en los tejidos

El metabolismo de las hormonas tiroideas contribuye a llevar a cabo sus acciones. La T_4 actúa en gran medida como prohormona de la T_3 , aunque también posee algunas acciones intracelulares intrínsecas propias (**Levy et al., 2006**).

La principal forma de metabolismo de las hormonas tiroideas implica la retirada de las moléculas de yodo. Excepto la T_3 , formada a partir de la T_4 , ningún derivado desyodado de la tironina tiene actividad biológica significativa (**Cunningham, 2003**). El hígado, el riñón y el músculo esquelético son los principales lugares de degradación para las hormonas tiroideas. La velocidad de eliminación de la T_4 es proporcional a la concentración plasmática de T_4 libre. La actividad hormonal de la T_4 es sólo un 25% de la de la T_3 ; por ello, el paso inicial de su conversión en el metabolito activo T_3 (por desyodación del anillo externo) o en el metabolito inactivo rT_3 (por desyodación del anillo interno) es un medio importante para regular la acción de la hormona tiroidea en los tejidos. Normalmente, el reparto entre T_3 y rT_3 es similar. Cuando conviene funcionalmente aumentar la acción de la hormona tiroidea, como ocurre en la exposición al frío, se genera más T_3 y menos rT_3 . Lo contrario, menor producción de T_3 que de rT_3 , suele ocurrir en enfermos críticos y augura una mala evolución. La actividad de la enzima 5'-monodesyodasa, que cataliza la conversión de T_4 a T_3 , es un importante regulador de esta distribución. El poco común oligoelemento selenio es necesario para la actividad de esta enzima (**Levy et al., 2006**).

La formación de los conjugados de hormonas tiroideas representa otra forma de inactivación; los sulfatos y los glucurónidos se forman sobre todo en el hígado y en los riñones. La conjugación es menos frecuente que la desyodación como forma de metabolismo de estas hormonas. Otra vía metabólica implica la modificación de la fracción de alanina de las tironinas por transaminación o por descarboxilación. Las formas desyodadas y conjugadas de las tironinas se eliminan principalmente por la orina; las tironinas no metabolizadas se excretan con las heces a través de la secreción biliar. La degradación de las formas conjugadas en las heces conlleva la producción de moléculas de yoduro, que se reabsorben como parte del llamado ciclo enterohepático (**Cunningham, 2003**).

Las acciones intracelulares de las hormonas tiroideas se llevan a cabo a través de receptores nucleares y cambios en la expresión génica. La T_4 y la T_3 se introducen en las dianas celulares a través de transportadores dependientes de energía, tras lo cual la mayor parte de la T_4 sufre una desyodación hacia T_3 . Ambas pasan al núcleo, donde la T_3 se une a un receptor nuclear con mucha mayor afinidad que la T_4 . Existen dos tipos de receptores de la T_3 , expresados específicamente según el tejido. El complejo receptor- T_3 interacciona con el DNA (*deoxyribonucleic acid*) y estimula o inhibe la transcripción de numerosos RNA mensajeros (mRNA, *messenger ribonucleic acid*). A continuación, esto rige la mayor o menor síntesis de muchas proteínas específicas en los diversos tejidos, entre ellas, enzimas, hormona del crecimiento (GH), cadenas de miosina, TSH y los receptores de T_3 . Las respuestas cuantitativas de los tejidos a la T_3 se correlacionan bien con su contenido de receptores nucleares y con el grado de su ocupación. Normalmente, alrededor de la mitad de los lugares receptores disponibles están ocupados por T_3 (**Levy et al.**, 2006).

Es probable que las hormonas tiroideas sean las principales determinantes del metabolismo basal. Sin embargo, es difícil definir sus efectos fisiológicos concretos, ya que muchos de ellos se han demostrado mediante la creación de estados hipo o hipertiroideos (**Cunningham**, 2003).

El efecto más evidente de la hormona tiroidea es la estimulación del consumo de O_2 y de la utilización de sustratos. En ello probablemente participen varios mecanismos. La T_3 aumenta el número, el tamaño, la superficie de las membranas y la concentración de ciertas enzimas respiratorias claves de las mitocondrias. La T_3 también estimula la actividad de la bomba $Na^+-K^+-ATPasa$, que es la responsable del transporte de cationes a través de la membrana. Como por este procedimiento se consumen grandes cantidades de ATP (*adenosine triphosphate*) y, por tanto, la $Na^+-K^+-ATPasa$ genera gran cantidad de ADP (*adenosine diphosphate*), el exceso de ADP podría ser uno de los mensajeros con los que la hormona tiroidea estimula la utilización de O_2 por las mitocondrias. Otra posibilidad consiste en que la hormona tiroidea estimule simultáneamente la síntesis y la oxidación de ácidos grasos y de glucosa, procesos que ocasionan ciclos inútiles que derrochan y consumen energía y generan calor. En el tejido encefálico, el consumo de O_2 no está

estimulado por la T_3 , pero la hormona aumenta la síntesis de proteínas estructurales y funcionales específicas (**Levy et al., 2006**).

Las acciones sobre todo el organismo de la hormona tiroídea compensan el aumento en la utilización de O_2 . La termogénesis y la temperatura corporal aumentan o disminuyen necesariamente con el consumo de O_2 . Sin embargo, los cambios son amortiguados por la mayor o menor pérdida de calor provocada por las hormonas tiroídeas mediante las modificaciones oportunas del flujo sanguíneo cutáneo, la sudoración y la ventilación (**Levy et al., 2006**).

Las hormonas tiroídeas no podrían estimular durante mucho tiempo la utilización de O_2 sin elevar su aporte a los tejidos. Por tanto, aceleran la frecuencia respiratoria en reposo lo suficiente para conservar una presión arterial de O_2 normal a pesar de su mayor utilización de O_2 , y una presión de CO_2 normal a pesar de su mayor producción. Además, la capacidad de transporte de O_2 por la sangre mejora gracias a un pequeño aumento de la masa eritrocitaria (**Levy et al., 2006**).

Otra acción importante de las hormonas tiroídeas es la elevación del gasto cardiaco, asegurando un aporte suficiente de O_2 a los tejidos. Aumenta la frecuencia cardiaca en reposo y el volumen sistólico, así como la velocidad y la fuerza de las contracciones miocárdicas. Estos efectos son parcialmente indirectos, a través de una estimulación adrenérgica. La presión arterial sistólica se eleva y la diastólica desciende, reflejando los efectos conjuntos del aumento del volumen sistólico y de la reducción considerable de las resistencias vasculares periféricas. Esta última se debe a la vasodilatación producida por el mayor metabolismo tisular (**Vischer et al., 1999; Cunningham, 2003; Levy et al., 2006**).

La estimulación de la utilización de O_2 también requiere un aporte de sustratos para su oxidación. Las hormonas tiroídeas potencian los efectos estimuladores de otras hormonas sobre la absorción de glucosa en el tubo digestivo, sobre la gluconeogénesis, sobre la lipólisis, sobre la cetogénesis y sobre la proteólisis de la reserva de proteínas lábiles. Por tanto, el efecto metabólico global de las hormonas tiroídeas se ha descrito acertadamente como la aceleración de la respuesta metabólica ante la inanición (**Levy et al., 2006**). En este mismo contexto, los efectos de las hormonas tiroídeas en los procesos

metabólicos, incluidos los de los hidratos de carbono, proteínas y lípidos, se describen como catabólicos (**Cunningham**, 2003).

Las hormonas tiroideas también estimulan la biosíntesis de colesterol y su oxidación, su conversión en ácidos biliares y su secreción biliar. El efecto neto es una reducción del colesterol corporal total y de su concentración plasmática. Se eleva la velocidad de eliminación metabólica de hormonas esteroideas, vitaminas B y muchos fármacos (**Levy et al.**, 2006). Estos efectos sobre el metabolismo lipídico se suelen observar en situaciones fisiopatológicas que producen hipersecreción o deficiencia de hormona tiroidea; en caballos tiroidectomizados, por ejemplo, se han detectado alzas en las concentraciones séricas de triglicéridos, colesterol y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (**Frank et al.**, 1999; **Frank et al.**, 2002).

Las hormonas tiroideas, además de su efecto sobre el metabolismo energético, son esenciales para los distintos eventos del desarrollo tanto prenatal como postnatal, incluyendo la formación de los órganos y la maduración del esqueleto (**Frank et al.**, 2002). Esto se consigue junto con la hormona del crecimiento, en parte, por el aumento de la captación de los aminoácidos por parte de los tejidos y la síntesis de las enzimas que participan en la síntesis proteica (**Cunningham**, 2003). También, las hormonas tiroideas aceleran el crecimiento al estimular la secreción de hormona del crecimiento (**Levy et al.**, 2006).

El sistema nervioso simpático es un intermediario importante de algunas acciones de las hormonas tiroideas. Estos productos reducen la actividad del sistema nervioso simpático, como demuestra el descenso en las concentraciones plasmáticas y la excreción urinaria de la noradrenalina, su neurotransmisor específico. Sin embargo, la sensibilidad de los tejidos a los efectos termógeno, lipolítico, glucogenolítico y gluconeogénico de la adrenalina y la noradrenalina se ve potenciada mediante la inducción de receptores catecolaminérgicos β por parte de las hormonas tiroideas (**Frank et al.**, 2002; **Cunningham**, 2003; **Levy et al.**, 2006).

En el sistema nervioso central, las hormonas tiroideas son imprescindibles para el desarrollo normal de los tejidos en el feto y en el neonato; el retraso de la actividad mental se produce cuando la exposición a hormonas tiroideas es inadecuada y no se

corrige inmediatamente después del nacimiento, produciéndose una lesión encefálica irreversible (**Cunningham**, 2003). En humanos, tanto en niños como adultos, la hormona tiroídea aumenta la velocidad y amplitud de los reflejos, la vigilia, la atención, la sensibilidad a diversos estímulos, la sensación de hambre, la memoria y la capacidad de aprendizaje (**Levy et al.**, 2006).

El funcionamiento normal del músculo esquelético también requiere la presencia de hormona tiroídea. Esto puede relacionarse con la regulación de la producción de energía y su almacenamiento en ese tejido (**Guyton y Hall**, 1999; **Levy et al.**, 2006). Por otra parte, es conocido que en humanos la hormona tiroídea contribuye a regular la función reproductora en ambos sexos. Sin embargo, en yeguas tiroidectomizadas no se han encontrado diferencias con respecto a la longitud del ciclo, la duración del estro, la amplitud del peak de hormona luteinizante durante el estro ni en el peak de las concentraciones de progesterona siete días post ovulación, y han gestado y parido potrillos sanos. En padrillos tiroidectomizados se ha observado una reducción en la libido, pero con concentraciones sanguíneas normales de andrógenos y exitosos servicios de yeguas (**Frank et al.**, 2002).

Regulación de la secreción de hormona tiroídea

La glándula tiroides es el componente efector de un clásico eje hipotálamo-adenohipófisis-glándula periférica (ver **Figura 7**). El principal estímulo de la secreción de hormona tiroídea es la tirotropina, u hormona estimuladora de la tiroides (TSH), segregada por la adenohipófisis. El estímulo directo de la secreción de TSH es la hormona liberadora de tirotropina (TRH) del hipotálamo. Las hormonas tiroídeas inhiben mediante retroalimentación negativa la síntesis y liberación de TSH por la hipófisis, así como la síntesis y liberación de TRH por el hipotálamo (**Cunningham**, 2003).

La TRH es un tripéptido: piroglutamina-histidina-prolina-amida. La TRH se almacena en la eminencia media del hipotálamo y llega a sus dianas celulares, las células tirotróficas, a través de la vena porta hipofisaria. Allí, la interacción de la TRH con sus receptores de la membrana plasmática desencadena un aumento en los segundos

mensajeros, el calcio y los derivados del fosfatidilinositol, que provoca la liberación de TSH mediante excitosis. La estimulación prolongada con TRH también incrementa la síntesis de TSH y su bioactividad, a través de una glicosilación. La TRH regula con el tiempo sus propios receptores en sentido descendente, con lo que va perdiendo eficacia (**Levy et al., 2006**).

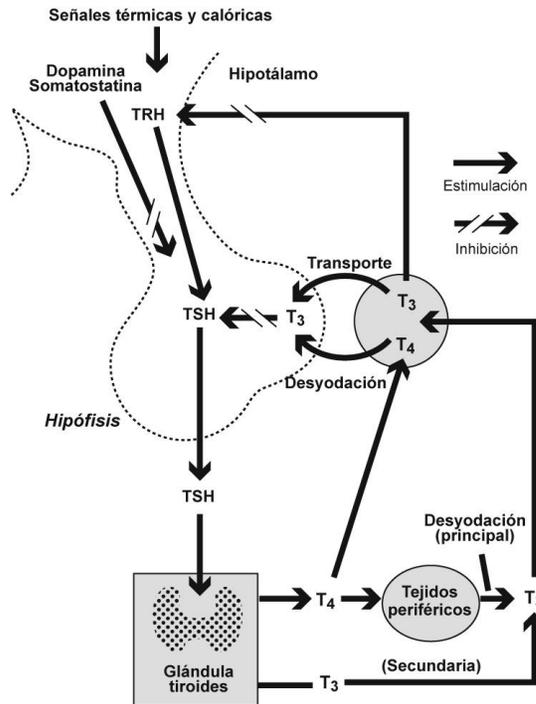


Figura 7 Eje hipotálamo-hipofisario-tiroideo. La TRH estimula la liberación de TSH por la hipófisis. La TSH activa la secreción de T_4 y, en menor grado, de T_3 por la glándula tiroidea. La T_3 , formada a partir de T_4 en tejidos periféricos o en la propia hipófisis, bloquea el efecto de la TRH y suprime la liberación de TSH por retroalimentación negativa. La dopamina y la somatostatina también inhiben tónicamente su liberación (**Levy et al., 2006**).

La TSH es una hormona glicoproteica de peso molecular 28.000. Está formada por dos subunidades peptídicas, cada una codificada por un gen independiente en dos cromosomas distintos (**Levy et al., 2006**). La subunidad α es característica de cada especie pero biológicamente inespecífica, ya que forma parte también de dos hormonas

hipofisarias diferentes (las hormonas luteinizante y estimulante de los folículos, o LH y FSH respectivamente) y la gonadotropina coriónica placentaria (CG), todas con funciones reproductoras. En cambio, la subunidad β de la TSH es completamente distinta y contiene los lugares específicos biológicamente activos de la hormona. Sin embargo, la subunidad β debe unirse mediante fuerzas no covalentes con la subunidad α para que la TSH estimule las células tiroideas (**Li y Ford**, 1998).

La TSH actúa sobre las células foliculares de la glándula tiroides, produciendo numerosos efectos, resumidos a continuación:

1. Aumento de la proteólisis de la tiroglobulina ya almacenada en los folículos, con la liberación subsiguiente de hormonas tiroideas a la sangre circulante y disminución de la sustancia folicular.
2. Aumento de la actividad de la bomba de yodo, que aumenta la tasa de atrapamiento de yodo en las células glandulares, aumentando en ocasiones la relación entre concentración de yodo intracelular y extracelular hasta ocho veces su valor normal.
3. Aumento de la yodación de tirosina y aumento del acoplamiento para formar hormonas tiroideas.
4. Aumento del tamaño y de la actividad secretora de las células tiroideas.
5. Aumento del número de células tiroideas junto con el paso de células cúbicas a cilíndricas y gran plegamiento del epitelio tiroideo hacia el interior de los folículos (**Guyton y Hall**, 1999).

En el pasado resultaba difícil explicar los numerosos y variados efectos de la TSH sobre la célula tiroidea. En la actualidad está claro que casi todos, si no todos, estos efectos son consecuencia de la activación del sistema del monofosfato de adenosina cíclico (AMPC) de la célula tras la unión de la TSH con sus receptores específicos en la membrana basal de la célula tiroidea. El resultado es tanto un aumento inmediato de la secreción de hormonas tiroideas, como un crecimiento prolongado del propio tejido glandular tiroideo (**Guyton y Hall**, 1999).

La producción de hormona tiroídea se halla bajo un fino control por retroalimentación. La retroalimentación negativa mantiene niveles relativamente constantes de T_4 y T_3 en el plasma. Un aumento o un descenso en la cantidad de hormona tiroídea sólo del 10 al 30% bastan para desplazar las concentraciones de TSH y su respuesta a la TRH en sentido contrario. La retroalimentación negativa se ejerce predominantemente a nivel hipofisario (**Levy et al.**, 2006).

La molécula efectora de la retroalimentación negativa es la T_3 , que puede entrar a la célula tirotrofa desde el plasma. Sin embargo, tiene más importancia la T_3 generada dentro de la glándula hipófisis por desyodación de la T_4 captada desde el plasma (ver **Figura 7**). La T_3 suprime la liberación de TSH, la expresión del gen de la TSH y regula en sentido decreciente los receptores de TRH. La secreción de TSH también es inhibida tónicamente por la dopamina y la somatostatina hipotalámicas. El cortisol y la hormona del crecimiento reducen asimismo la secreción de TSH, esta última probablemente al estimular la liberación de somatostatina (**Levy et al.**, 2006).

La actividad del eje hipotálamo-hipofisario-tiroideo ocasiona una concentración plasmática de TSH ligeramente pulsátil y valores plasmáticos estables de T_4 y T_3 . Esto es adecuado para hormonas cuyas acciones sobre el metabolismo son graduales y aumentan y disminuyen lentamente. Las situaciones fisiológicas que modifican la cantidad de TSH y, por tanto, de T_4 y T_3 , concuerdan con la acción de las hormonas tiroideas sobre la utilización de la energía y la termogénesis (**Levy et al.**, 2006). Durante el ayuno total, disminuye la sensibilidad de la TSH a la estimulación por la TRH y, quizá, la propia liberación de TRH; también desciende la presencia de T_3 y T_4 , lo que coincide con una ventajosa disminución del índice metabólico en reposo (**Messer et al.**, 1995b). En cambio, el consumo de un exceso de calorías, especialmente hidratos de carbono, tiende a incrementar la disponibilidad de T_3 y T_4 (**Glade y Luba**, 1987).

Uno de los estímulos mejor conocidos en cuanto a aumento de la secreción de TRH por el hipotálamo y, por tanto, de secreción de TSH por la hipófisis anterior, es la exposición de un animal al frío. Este efecto es consecuencia de la excitación de los centros hipotalámicos que controlan la temperatura corporal. También diversas reacciones conductuales pueden afectar la producción de TRH y de TSH y, por tanto, afectar de forma indirecta la secreción de hormonas tiroideas (**Guyton y Hall**, 1999). El estrés, por

ejemplo, estimula la secreción de corticoides endógenos, los que disminuyen la concentración de TSH circulante, la liberación de TSH dependiente de TRH y el contenido hipofisario de TSH, y consecuentemente disminuye la concentración de hormonas tiroideas (**Messer *et al.***, 1995b).

Enfermedades de la glándula tiroides en el equino

Las disfunciones de la tiroides se clasifican de acuerdo a la modificación encontrada en las concentraciones de hormonas tiroideas disponibles en el organismo. De esta forma, hipotiroidismo se refiere a una deficiencia de hormonas tiroideas biológicamente activas, e hipertiroidismo, por el contrario, a un exceso de ellas (**Frank *et al.***, 2002).

Los casos bien documentados de disfunción tiroidea en el equino son pocos. Mientras se sabe que el hipertiroidismo es extremadamente raro, presente sólo en contados casos de neoplasia tiroidea (**Alberts *et al.***, 2000), se desconoce la prevalencia de hipotiroidismo real en caballos adultos. Esto debido a la frecuente suplementación con hormona tiroidea que se realiza en animales que sufren de laminitis y miositis recurrentes, baja fertilidad, anhidrosis, aumento de peso y cambios en la distribución de la grasa corporal, signos más cercanos a la enfermedad de Cushing equina o al síndrome metabólico equino, careciendo de un diagnóstico real de hipotiroidismo. Como resultado, ciertos ejemplares podrían recibir suplementación tiroidea por un extenso período de tiempo sin siquiera requerirlo. Además de la evidente pérdida económica, no se han estudiado en equinos los potenciales riesgos a la salud asociados con la administración innecesaria de tiroxina, como sí se sabe existen en humanos (**Breuhaus**, 2004).

El hipotiroidismo se puede clasificar de forma general como enfermedad primaria, secundaria o terciaria. El término hipotiroidismo primario se utiliza para describir disfunciones de la glándula tiroides misma. La secreción anormal de TSH por parte de la adenohipófisis constituye un hipotiroidismo secundario. El hipotiroidismo terciario no se ha descrito en el equino, pero teóricamente se produciría por una inadecuada liberación de TRH desde el hipotálamo. Una cuarta clase de hipotiroidismo serían las condiciones que

afectan la unión y actividad de las hormonas circulantes en los tejidos periféricos. De forma más específica, el hipotiroidismo se presenta de cuatro formas distintas en el equino: hipotiroidismo congénito, en potrillos; hipotiroidismo primario idiopático, en caballos adultos; hipotiroidismo secundario, y síndrome de eutiroideo enfermo (SEE), en animales con enfermedades no tiroideas severas (**Frank et al.**, 2002).

Existen dos importantes razones fisiológicas del porqué los desórdenes de la tiroides son más comunes y severos en potrillos que en animales adultos. Primero, la glándula tiroides en un adulto sano posee la capacidad de autorregularse ante una concentración anormalmente alta de yodo. La tiroides fetal, en cambio, carece de esta habilidad, alterándose permanentemente su funcionalidad en presencia de niveles anormales de yodo y dando como resultado un hipotiroidismo de origen congénito. Por otra parte, el estado eutiroideo no es necesario para mantener una funcionalidad relativamente normal en el caballo adulto, pero es determinante para el desarrollo normal del esqueleto y sistema nervioso en el feto y el neonato (**Irvine**, 1984; **Frank et al.**, 2002).

El hipotiroidismo congénito se produce tanto por deficiencia como por exceso de yodo en la dieta de la hembra durante la gestación, la cual suele tener una funcionalidad tiroidea normal. Experimentalmente, yeguas gestantes han sido alimentadas con dietas deficientes en yodo, dando como resultado potrillos débiles o muertos al parto con bocio y alopecia. También existe un síndrome congénito que consiste en hiperplasia de la glándula tiroides y deformidades musculoesqueléticas o TH-MSD (*thyroid gland hyperplasia and musculoskeletal deformities*). En este no hay predisposición por raza o sexo, y la mayoría de los potrillos nacen tras gestaciones prolongadas (340-400 días) y con dismadurez, caracterizados por un pelaje corto y sedoso, orejas flexibles, debilidad muscular y desarrollo esquelético incompleto, pero mueren o son eutanasiados durante la primera semana de vida. Los que sobreviven presentan enfermedades musculoesqueléticas persistentes que no revierten con la suplementación de tiroxina, además de concentraciones bajas de hormonas tiroideas en el suero sanguíneo. Aún no se determina la causa exacta de este síndrome, pero mediante estudios epidemiológicos se ha concluido que la combinación de la ingestión de nitrato presente en la pradera junto con bajos niveles de yodo en la dieta podrían ser los responsables de esta condición. De ser así,

entonces la suplementación con yodo durante la gestación debiera prevenir este síndrome. Por otra parte, aparecen con relativa frecuencia reportes sobre bocio e hipotiroidismo en potrillos de yeguas con ingesta de yodo excesiva durante la gestación, pero estos suelen mejorar o recuperarse una vez que se retira la fuente del exceso de yodo, lo que da la impresión que los síndromes de toxicidad por yodo generan cuadros menos severos que los por deficiencia de yodo y TH-MSD (**Frank *et al.*, 2002**).

Con relación al hipotiroidismo en el caballo adulto no existe mayor claridad. La tiroiditis inmunomediada es una endocrinopatía común en perros y una causa bien documentada de hipotiroidismo en humanos, pero no ha sido diagnosticada de forma definitiva en equinos, por lo que el hipotiroidismo primario permanece como de origen idiopático en el caballo adulto (**Frank *et al.*, 2002**).

Una disminución en las concentraciones de hormonas tiroideas también puede ocurrir como resultado de la supresión de la formación de TSH y/o de su liberación inducida por TRH. Numerosos factores extratiroideos pueden afectar el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides y generar una baja en las concentraciones de hormonas tiroideas, tales como la administración de fenilbutazona, dietas ricas en energía, proteínas, zinc o cobre; dietas con una alta relación concentrado:voluminoso, la administración de glucocorticoides, el ayuno, el nivel de entrenamiento, etapa de la gestación, y la ingestión de festuca infectada con endófitos (**Frank *et al.*, 2002**).

En el hipotiroidismo secundario, también llamado central, pituitaria-dependiente o idiopático, la glándula tiroides se encuentra normal y es capaz de responder a la estimulación con TSH o TRH. Un buen ejemplo es la terapia con fenilbutazona. Este fármaco tiene una alta afinidad por proteínas, siendo capaz de desplazar a las hormonas tiroideas de su unión a proteínas de transporte. El aumento en la disponibilidad de hormona libre genera un efecto de retroalimentación negativo e inhibe al eje hipotálamo-hipófisis-tiroides, inhibiendo a su vez la secreción de hormona tiroidea por parte de la tiroides, lo que resulta en una disminución de los niveles séricos totales de T₃ y T₄ (**Frank *et al.*, 2002**).

El síndrome de eutiroides enfermo se encuentra bien definido en perros y humanos, y se utiliza para designar el patrón de cambios en las hormonas del eje

hipófisis-tiroides que ocurre en pacientes con enfermedades ajenas a la glándula tiroides. La alteración más común es la caída de las concentraciones de T_3 , sin embargo, si la gravedad de la enfermedad es mayor, pueden caer también los niveles de T_4 e incluso de TSH (**Mosso**, 2000). La mayoría de las veces, estas enfermedades no tiroideas afectan la funcionalidad de la tiroides mediante procesos no relacionados con la enfermedad en sí. Estos efectos incluyen:

1. Aumento de la relación libre a ligada en las hormonas tiroideas en suero.
2. Disminución en la tasa de conversión de T_4 a T_3 .
3. Disminución del *clearance* de rT_3 .
4. Disminución o ausencia de la respuesta de los tirotrófos a bajos niveles de hormonas tiroideas y a TRH, con depresión de la TSH basal en estados muy severos (**Frank et al.**, 2002).

Estas modificaciones de la funcionalidad tiroidea tendrían una función protectora para preservar calorías y evitar la pérdida de masa magra en estados catabólicos. El grado en que se afecta la funcionalidad de la tiroides, representado por la magnitud de la reducción de T_3 , está relacionado con la severidad de la enfermedad, por lo que la concentración de T_3 constituye un importante factor de pronóstico clínico (**Mosso**, 2000). Aunque se encuentra poco documentado en caballos, no hay razón para creer que este síndrome no afecte a los equinos (**Frank et al.**, 2002).

Por otra parte, la tiroides también puede presentar neoplasias. La mayoría de los reportes sobre neoplasias de la tiroides en equinos consisten en adenomas benignos, no poco comunes en caballos de edad avanzada. Los signos asociados a estos adenomas son normalmente agrandamiento de la glándula y, raramente o nunca, hipo o hipertiroidismo (**Breuhais**, 2004). Existen dos reportes de caballos de edad avanzada con hipertiroidismo y neoplasia tiroidea. En ambos casos los signos clínicos eran similares a los encontrados en el hipertiroidismo de otras especies, tales como agrandamiento de la tiroides, pérdida de peso, hiperexcitabilidad, polifagia, taquipnea y taquicardia, además de aumento en las concentraciones de hormonas tiroideas. Tras la realización de una tiroidectomía, los signos

clínicos remitieron y los niveles hormonales volvieron a la normalidad (**Alberts et al.**, 2000; **Frank et al.**, 2002).

Diagnóstico de la disfunción tiroídea en equinos

El hipotiroidismo produce una variedad de signos vagos e inespecíficos que dificultan su diagnóstico clínico, entre los que se encuentran depresión y letargo, cambios en la piel o pelaje, hipotermia, sensibilidad al frío y, en algunos casos, edema no específico en las partes distales de los miembros posteriores (**Rose y Hodgson**, 1995). La remoción quirúrgica de la tiroides en caballos adultos provoca una disminución en la frecuencia cardiaca, el gasto cardiaco, la frecuencia respiratoria y la temperatura rectal, pero siempre dentro de los límites aceptados como normales, a la vez que aumenta el volumen sanguíneo y plasmático del ejemplar (**Vischer et al.**, 1999; **Frank et al.**, 2002). En un estudio, también en equinos tiroidectomizados, se detectó un alza en las concentraciones séricas de triglicéridos, colesterol y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), pero en este caso tampoco pueden utilizarse estos valores para determinar a un animal hipotiroideo, con la posible excepción de VLDL (**Frank et al.**, 1999).

Actualmente, la función tiroídea en el equino se evalúa midiendo las concentraciones séricas totales y libres de T_3 y T_4 , y la respuesta de estas hormonas a la administración de TRH o de TSH (**Morris y García**, 1983; **Sojka et al.**, 1993; **Messer et al.**, 1995a). Estas pruebas de estimulación o dinámicas son consideradas más sensibles que la medición de la concentración basal de hormonas tiroideas para evaluar la función de la tiroides. Sin embargo, en la práctica clínica equina estas pruebas no se hacen de forma rutinaria debido a lo inconveniente de tomar múltiples muestras de sangre en el tiempo y al elevado costo o baja disponibilidad de la TRH o TSH necesaria para realizarlas (**Breuhau**s, 2004).

El protocolo para realizar una prueba de estimulación con TRH utilizado por **Breuhau**s (2004) es el siguiente:

1. Extraer una muestra de sangre como control y administrar 1 mg de TRH para un caballo promedio de 400 a 600 kg por vía intravenosa.

2. Tomar muestras de sangre a las 1, 2 y 4 horas posteriores a la administración de TRH.

Las concentraciones hormonales resultantes debieran ser como siguen:

1. TSH registra su peak 1 hora post administración y debiera aumentar en 2,5 a 3 veces su valor basal.
2. T₃ y fT₃ alcanzan el peak alrededor de las 2 horas post administración y debieran, por lo menos, doblar su concentración inicial.
3. T₄ y fT₄ tienen su peak entre 4 y 6 horas post administración; T₄ debiera doblar su valor basal, mientras fT₄ debiera aumentar por lo menos 1,7 veces su concentración.

La medición de la concentración basal en suero de las hormonas tiroideas es menos complicado y más conveniente para el clínico de equinos que la realización de pruebas dinámicas. Sin embargo, estas muestras sólo representan un punto en el tiempo, por lo que pueden dar una mala representación del estado tiroideo real debido a que el metabolismo, la unión a proteínas y el transporte de las hormonas puede verse alterado temporalmente por ciertos estados fisiológicos o patofisiológicos y algunas drogas (**Breuhaus**, 2004).

Es por ello que al evaluar las hormonas tiroideas en los caballos es importante tener una historia completa. Los efectos de las drogas, estado de entrenamiento, estación del año, variación diurna, sexo y edad del ejemplar son puntos que deben tenerse en cuenta cuando se interpretan los valores de las pruebas (**Reed y Bayly**, 1998). Por lo tanto, no se deben haber administrado drogas ni compuestos yodados en los 10 a 14 días previos al muestreo. La fenilbutazona, por ejemplo, disminuye las concentraciones séricas de T₃ y T₄ debido a su alta afinidad a proteínas de transporte y a la disminución en la síntesis de T₄ que ocasiona (**Morris y García**, 1983; **Sojka et al.**, 1993). El ayuno prolongado, al igual que las enfermedades sistémicas (**Frank et al.**, 2002; **Breuhaus**, 2004), también disminuye la concentración de hormonas tiroideas, pero estas vuelven a la normalidad apenas se reanuda la alimentación (**Messer et al.**, 1995b). Dietas ricas en carbohidratos producen un incremento significativo en las concentraciones de T₃ y T₄ (**Glade y Luba**, 1987).

A pesar que las concentraciones séricas de T_4 no presentan variación por sexo, las de T_3 correspondientes a padrillos son más altas que las de machos castrados o yeguas (**Chen y Riley**, 1981). En estado de gravidez, las yeguas debieran presentar concentraciones de hormonas tiroideas mayores a las encontradas normalmente en suero, que es lo ocurrido en otras especies como el humano, debido al incremento de las concentraciones de estrógeno producido durante la gestación; los estrógenos aumentan la síntesis hepática de TBG con el consiguiente desplazamiento hacia la forma ligada de las hormonas tiroideas (**Reed y Bayly**, 1998; **Levy et al.**, 2006). Sin embargo, **Messer et al.** (1998) encontraron una baja en las concentraciones de hormonas tiroideas durante la gestación, probablemente como resultado del balance energético negativo de este periodo.

La raza no afecta las concentraciones de T_3 ni de T_4 , pero la edad sí. Se ha indicado que las concentraciones séricas de T_4 disminuyen hasta llegar a los valores del adulto durante los primeros 16 días de vida y los de fT_4 lo hacen de forma gradual en los primeros 3 meses. No obstante, un estudio muestra que las concentraciones de T_3 y T_4 son más altas aún a los 4 meses de edad en comparación con los valores del adulto (**Chen y Riley**, 1981).

Cuando se miden las concentraciones séricas de T_3 y T_4 , se debiera considerar la variación diurna, ya que la segunda es 33% menor a las 8 de la mañana que entre las 5 y 8 de la tarde (**Morris y García**, 1983). Sin embargo, **Sojka et al.** (1993) no encontraron diferencias significativas en las concentraciones de T_3 y T_4 entre muestras tomadas alrededor de las 9:00 y las 18:00.

Al igual que en los ovinos, existe un patrón estacional en la secreción de TSH y de T_4 , teniendo la primera su peak durante el verano y la segunda durante el invierno, lo que coincide con las frías temperaturas ambientales (**Buff et al.**, 2006).

El ejercicio afecta la concentración sérica de T_4 ; dentro de un programa de entrenamiento, sus concentraciones disminuyen durante la primera fase de éste para posteriormente presentar mayores concentraciones a las observadas al inicio del programa (**Allen**, 1996).

Entonces, si medir la concentración basal de hormonas tiroideas es la única opción para evaluar la función de la glándula, lo ideal es medir las fracciones libres de T_3 y T_4 , solas o en conjunto con las concentraciones totales de hormonas, ya que proveen mayor información que las concentraciones totales de hormonas tiroideas por sí solas, puesto que en las fracciones libres no se generan distorsiones derivadas de proteínas transportadoras (**Breuhau**s, 2004).

Además, con el objeto de lograr un diagnóstico certero de disfunción tiroidea e instaurar un tratamiento apropiado, se debe evaluar el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides. Para ello, resulta conveniente medir la concentración sérica de eTSH, ya que permite diferenciar entre un origen primario y uno central de la alteración (**Breuhau**s, 2002; **Frank et al.**, 2002; **Johnson et al.**, 2003). En un hipotiroidismo primario, por ejemplo, las concentraciones en suero de T_3 , T_4 , fT_3 o fT_4 se encontrarían bajo lo normal y acompañadas de elevadas concentraciones de TSH. Sin embargo, aún no se encuentra disponible un kit comercial para la determinación de eTSH, lo que impide evaluar de forma completa la funcionalidad de la tiroides en el equino (**Breuhau**s, 2004).

Los valores de referencia para hormonas tiroideas varían un tanto entre laboratorios y generalmente se incluyen junto con los resultados (ver **Anexo 1**). Las diferencias encontradas entre laboratorios en estos valores se producen ya sea por la utilización de distintas técnicas de ensayo, unidades de medición o por las poblaciones de equinos utilizadas para establecer estos valores. Al momento de elegir un laboratorio de diagnóstico, es importante verificar que este ha validado sus ensayos y ha establecido sus valores de referencia en una población de caballos sanos (**Breuhau**s, 2004).

Por lo anterior, sería de gran importancia contar finalmente en el país con una herramienta capaz de facilitar o confirmar el diagnóstico de hipotiroidismo e hipertiroidismo en el paciente equino en *training*. Con este fin, se propone la medición de las concentraciones séricas de T_3 , T_4 , fT_3 y fT_4 como medio de evaluación básica de la función de la tiroides. Este estudio pretende entregar los valores de referencia necesarios para su aplicación, mediante su determinación en equinos FSC en *training* clínicamente sanos, y analizar la influencia del sexo sobre sus concentraciones.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Establecer valores de referencia para la evaluación de funcionalidad tiroidea en equinos FSC en *training*.

Objetivos específicos

- Determinar las concentraciones séricas de las hormonas T_3 , T_4 , fT_3 y fT_4 en equinos FSC en *training*.
- Determinar si existen diferencias en la cuantificación sérica de las hormonas T_3 , T_4 , fT_3 y fT_4 según sexo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en base a 43 ejemplares FSC de entre 2 y 5 años de edad provenientes de distintos corrales del Club Hípico de Santiago. Todos los animales se encontraban sometidos a medidas de manejo, alimentación y entrenamiento habituales para esta raza. Los animales seleccionados debían encontrarse clínicamente sanos, estado que se determinó mediante examen clínico y exámenes de laboratorio complementarios, que comprenden:

- Hemograma.
- Perfil bioquímico completo.

Los datos obtenidos en el examen clínico y en las pruebas de laboratorio fueron reunidos en una ficha de registro individual para cada ejemplar (ver **Anexo 2**).

Grupos experimentales

De forma preliminar, se ideó realizar el estudio utilizando dos grupos de 20 ejemplares cada uno, agrupados considerando la variable sexo. Los animales estudiados no debían haber sido sometidos a tratamientos farmacológicos de ningún tipo durante los últimos 10 días previos a la toma de muestra y, en el caso de las hembras, no debían encontrarse en estado de gestación. A su vez, todos los ejemplares debían encontrarse en entrenamiento y compitiendo.

Entonces, los grupos se conformaron de la siguiente manera:

- Grupo I: Equinos FSC machos castrados de 2 a 5 años de edad.
- Grupo II: Equinos FSC hembras de 2 a 5 años de edad.

Toma de muestras

La toma de las muestras necesarias para realizar este estudio se hizo durante la época de verano de los años 2006 y 2007. Todas las muestras de sangre fueron obtenidas alrededor de las 8 de la mañana, mediante venipuntura yugular con jeringas de 12 ml NIPRO LuerLOCK[®], con los animales en ayuno y antes de comenzar su actividad física. Por cada animal se debieron extraer 11 ml de sangre, distribuidos sin aguja como sigue:

- 3 ml de sangre en un tubo BD Vacutainer[®] tapa lila con sal tripotásica de ácido etilendiaminotetraacético o K₃ EDTA para la realización de hemograma.
- 5 ml de sangre en un tubo BD Vacutainer[®] tapa roja sin anticoagulante para perfil bioquímico y mediciones hormonales.
- 3 ml de sangre en un tubo BD Vacutainer[®] tapa gris con 7,5 mg de fluoruro de sodio para determinación de glicemia.

Estos tubos, una vez llenos y homogenizados, se trasladaron al Laboratorio de Química Clínica Especializada (LQCE), División Veterinaria, en un plazo máximo de 2 horas. Una vez fueron ingresadas al laboratorio, las muestras fueron procesadas de inmediato para la realización de los distintos análisis.

Métodos para análisis control sano

Las muestras fueron analizadas mediante distintos métodos, dependiendo del examen a realizar:

1. Hemograma

- Recuento de elementos figurados: Analizador ADVIA 60[®] Bayer.
- Fórmulas leucocitarias: Tinción Giemsa en microscopio óptico ARQUIMED[®].
- VHS: Método de Westergren en Automatic ESR Analyzer MICROsed-System[®].

2. Perfil bioquímico

Las pruebas de bioquímica sanguínea se realizaron en un equipo automatizado Vitalab Selectra 2[®], basado en distintos métodos fotolorimétricos según el analito a determinar:

- Proteínas totales: Método Biuret a 37°C.
- Albúmina: Método BCF (Bromo Cresolsulfon Ftaleína).
- Colesterol: Método colesterol oxidasa o CHOD-PAP (*Cholesterol Oxidase Phenol 4-Aminoantipyrine Peroxidase*).
- Calcio: Método fotolorimétrico directo a 650 nm Arsenazo III.
- Fósforo: Método fósforo molibdato UV (Ultravioleta).
- Glucosa: Método glucosa oxidasa o GOD-PAP (*Glucose Oxidase Phenol 4-Aminoantipyrine Peroxidase*).
- NUS (Nitrógeno Ureico Sanguíneo): Método UV a tiempo fijo.
- Creatinina: Método enzimático UV.
- CPK (Creatinfosfoquinasa): Método UV optimizado (IFCC, *Internacional Federation of Clinical Chemistry*) 37°C.
- GOT (Transaminasa oxaloacética): Método UV optimizado (IFCC) 37°C.
- GGT (Gamma glutamil transferasa): Método UV optimizado (IFCC) 37°C.
- FA (Fosfatasa alcalina): Método p-nitrofenilfosfato, tampón DEA (Dietanolamina) 37°C.
- Bilirrubina total: Método DPD (Diclorofenildiazonio).

Métodos para análisis hormonales

Las mediciones de T_3 , T_4 , fT_3 y fT_4 se realizaron mediante Radioinmunoensayo (RIA) con el correspondiente Kit de Reactivos Vitros[®] Ortho-Clinical Diagnostics. El coeficiente de variación (CV) intra e interensayo de cada prueba es < 10% y su sensibilidad es 0,150 nmol/l; 4,00 nmol/l; 0,60 pmol/l y 0,40 pmol/l, respectivamente.

Los resultados se entregan en ng/ml de T_3 , pg/ml de fT_3 , µg/dl de T_4 y ng/dl de fT_4 . Con el objetivo de facilitar la comparación y análisis de los resultados obtenidos con respecto a los estudios realizados por otros autores, estos también pueden expresarse en nmol/L para T_3 y T_4 , y en pmol/L para fT_3 y fT_4 . Para ello se utilizan las siguientes ecuaciones:

- Valores expresados en ng T_3 /ml = valores en nmol T_3 /L x 0,651
- Valores expresados en pg fT_3 /ml = valores en pmol fT_3 /L x 0,651
- Valores expresados en µg T_4 /dl = valores en nmol T_4 /L x 0,0777
- Valores expresados en ng fT_4 /dl = valores en pmol fT_4 /L x 0,0777

Las pruebas de T_3 y T_4 utilizan una técnica de inmunoensayo competitivo, que depende de la competencia entre la hormona presente en la muestra y un conjugado de la hormona marcado con peroxidasa de rábano (HRP) por un número limitado de lugares de unión en un anticuerpo anti-hormona de oveja. El anti-hormona de oveja es capturado por un segundo anticuerpo anti-oveja de asno con el que se recubren los pocillos. Los materiales no fijados se eliminan mediante lavados. El conjugado de HRP fijado se mide por una reacción luminiscente. Se añaden a los pocillos substratos luminogénicos que contienen un reactivo y un agente de transferencia de electrones. La HRP en el conjugado fijado cataliza la oxidación del derivado de luminol y produce luz. El agente de transferencia de electrones incrementa el nivel de luz producido y prolonga su emisión. Las señales lumínicas son leídas por el Sistema Vitros[®]; la cantidad de conjugado HRP fijado es indirectamente proporcional a la concentración de hormona presente.

En el caso de fT_3 y fT_4 se utiliza una técnica directa de inmunoensayo competitivo con anticuerpos marcados. La hormona presente en la muestra compite con el ligando que hay en la superficie modificada del pocillo por un número limitado de lugares de unión en

un conjugado de anticuerpo anti-hormona de oveja marcado con HRP. La superficie del pocillo ha sido modificada para actuar como ligando para el conjugado no combinado. Los materiales no fijados se eliminan mediante lavados. Las señales lumínicas son leídas por el Sistema Vitros® de igual manera que en las pruebas para T₃ o T₄; la cantidad de conjugado HRP fijado es indirectamente proporcional a la concentración de hormona libre presente.

La precisión y exactitud de los resultados de estas pruebas se mantiene utilizando sueros controles de concentraciones conocidas Vitros® Ortho-Clinical Diagnostics de cada hormona previo a cada corrida de muestras.

Análisis estadístico

Los valores obtenidos en las mediciones hormonales se analizaron mediante estadística descriptiva en el programa computacional *Microsoft Office Excel 2007*, es decir, los resultados se informaron como media, desviación estándar y coeficiente de variación.

Determinación de la influencia del factor sexo en la cuantificación sérica de las hormonas T₃, T₄, fT₃ y fT₄

Con el objeto de determinar si la diferencia entre ambos grupos experimentales respecto a la variable sexo es significativa, se utilizó la prueba de t para dos muestras independientes.

Para ello es necesario primero calcular los grados de libertad y consultar con la tabla t. Los grados de libertad para una prueba t independiente son los números de casos en el primer grupo más los números de casos en el segundo grupo menos 2, en este caso 41. Al consultar la tabla t se encuentra que con un 95% de confianza y 41 grados de libertad la razón de t es 2,021. Luego, se debe calcular el valor de t para cada grupo utilizando las siguientes ecuaciones:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}}$$

$$S_{\bar{X}_1 - \bar{X}_2} = \sqrt{S_e^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}$$

$$S_e^2 = \frac{S_1^2(n_1 - 1) + S_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}$$

Donde:

t = valor de t para cada grupo.

\bar{X}_i = media muestral (i=1,2).

$S_{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}$ = error estándar de la diferencia entre dos medias.

S_e^2 = varianza combinada.

S_i^2 = varianza muestral (i=1,2).

n_i = tamaño muestral.

Con el objeto de determinar si las diferencias encontradas en las mediciones hormonales entre ambos grupos experimentales respecto a la variable sexo son significativas, se compara el valor de t obtenido con el correspondiente a los 41 grados de libertad. Si t es $\geq 2,021$ entonces la diferencia entre los grupos I y II es estadísticamente significativa para esa variable.

Los resultados para t obtenidos fueron confirmados mediante *QuickCalcs Online Calculators for Scientists* de GraphPad Software Inc.

Establecimiento de intervalos de referencia para las hormonas T₃, T₄, fT₃ y fT₄ en equinos FSC en *training*

Para establecer los valores de referencia necesarios para evaluar la funcionalidad de la tiroides en equinos FSC, se calcularon los límites de confianza al 95%, considerando dos desviaciones estándar (2S) desde la media para el planteamiento de los límites mínimos y máximos, utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{L.C. } \mu = \bar{X} \pm t \cdot S_{\bar{X}}$$

Donde:

L.C. μ = límite de confianza poblacional.

\bar{X} = media muestral.

t = valor de t.

$S_{\bar{X}}$ = desviación estándar.

RESULTADOS

Con fines prácticos, la determinación de las concentraciones totales y libres de ambas hormonas tiroideas, triyodotironina y tiroxina (T_3 y T_4 , respectivamente), se presentan en dos tablas separadas según el grupo al que pertenece cada ejemplar (ver **Tabla 1** y **Tabla 2**).

El análisis de los resultados obtenidos para cada hormona, ya sea T_3 , fT_3 , T_4 o fT_4 , se realizó mediante estadística descriptiva, calculándose la media, desviación estándar y coeficiente de variación para cada grupo y para el total de las observaciones (ver **Tabla 3**, **Tabla 4**, **Tabla 5** y **Tabla 6**).

Determinación de la influencia del factor sexo en la cuantificación sérica de las hormonas T_3 , T_4 , fT_3 y fT_4

En la **Tabla 7** se entregan los resultados obtenidos al realizar la prueba de t para dos muestras independientes. De acuerdo a estos resultados, no existe diferencia estadística entre ambos grupos para ninguna de las variables en estudio.

Establecimiento de intervalos de referencia para las hormonas T_3 , T_4 , fT_3 y fT_4 en equinos FSC en *training*

Los intervalos de referencia obtenidos en este estudio para las concentraciones en suero de las hormonas T_3 , fT_3 , T_4 y fT_4 se presentan en la **Tabla 8**.

Tabla 1 Concentraciones séricas totales y libres de T₃ y T₄ en ejemplares del Grupo I (machos castrados).

Observación N°/Nombre	T₃ (ng/ml)	fT₃ (pg/ml)	T₄ (µg/dl)	fT₄ (ng/dl)
1 Entre Amigos	27,1	3,07	0,96	0,77
2 Viten	31,5	2,90	1,80	1,10
3 Well Be Mine	49,4	5,63	1,50	1,40
4 Club Dumas	29,2	3,06	1,20	0,84
5 Príncipe de Asturias	41,6	5,58	1,10	0,75
6 Tunik	49,8	5,85	1,00	0,90
7 Champ de Course	63,6	5,71	1,10	0,74
8 Der Kaiser	68,2	7,63	0,57	0,39
9 Che Chorlito	33,8	5,02	1,20	1,00
10 Armagnac	60,6	5,28	2,80	1,50
11 Nasrudin	41,6	5,03	0,93	0,66
12 Chile Recorte	55,0	6,12	0,78	0,60
13 Tim	67,8	8,49	1,10	0,78
14 Farseto	63,3	6,63	0,93	0,65
15 Don Beto	26,9	2,61	0,85	0,77
16 Scrim	95,6	10,80	0,97	0,71
17 Velaval	42,5	5,87	1,40	1,20
18 Mi Hijo Es Grande	63,2	5,87	1,00	0,64
19 Transantiago	53,0	6,58	0,95	0,96
20 Amalito	53,0	5,80	1,20	1,50
21 Príncipe del Camino	59,2	5,68	1,60	1,40
22 Sanglamore	58,2	5,77	1,20	0,93
23 Este sí	169,0	16,10	1,80	1,40

Tabla 2 Concentraciones séricas totales y libres de T₃ y T₄ en ejemplares del Grupo II (hembras).

Observación N°/Nombre	T₃ (ng/ml)	fT₃ (pg/ml)	T₄ (µg/dl)	fT₄ (ng/dl)
1 Queen Adama	47,4	5,93	0,76	0,69
2 Soy Latina	61,5	5,15	1,00	0,82
3 Baby Vamp	38,4	4,53	0,80	0,47
4 Tomka	69,4	7,45	0,75	0,40
5 Así de Simple	38,6	5,43	1,20	0,81
6 Domenika	39,9	5,06	0,80	0,56
7 Bihar	42,3	3,97	2,00	0,98
8 Larousse	62,2	6,34	1,10	1,00
9 Chichi Bella	66,9	7,94	1,00	0,96
10 Miss Pulpy	133,0	13,60	1,30	0,99
11 Finland	73,3	7,85	1,20	1,10
12 Denisse Beach	49,3	5,61	1,70	1,50
13 Nota Cuatro	54,8	5,65	0,88	0,68
14 Nueva Sociedad	160,0	15,50	1,80	1,60
15 La Mal Contenta	60,2	5,81	1,80	1,30
16 Miss Lady	51,1	4,69	1,50	1,30
17 Once Meses	94,1	9,91	1,40	1,40
18 Miss Canele	123,0	13,10	1,70	1,80
19 La Monona	56,5	6,08	0,96	0,99
20 La Pirámide	81,1	8,27	1,00	0,84

Tabla 3 Descripción estadística de las concentraciones séricas totales de T₃ (ng/ml) determinadas en el Grupo I, Grupo II y en el total de los ejemplares.

	Grupo I	Grupo II	Total
Nº Observaciones	23	20	43
Media	56,7	70,2	62,9
Desviación estándar	29,39	33,40	31,68
Coefficiente de variación (%)	51,83	47,58	50,37
Mínimo	26,9	38,4	26,9
Máximo	169,0	160,0	169,0

Tabla 4 Descripción estadística de las concentraciones séricas libres de T₃ (pg/ml) determinadas en el Grupo I, Grupo II y en el total de los ejemplares.

	Grupo I	Grupo II	Total
Nº Observaciones	23	20	43
Media	6,13	7,39	6,72
Desviación estándar	2,83	3,24	3,06
Coefficiente de variación (%)	46,17	43,84	45,54
Mínimo	2,61	3,97	2,61
Máximo	16,10	15,50	16,10

Tabla 5 Descripción estadística de las concentraciones séricas totales de T₄ (µg/dl) determinadas en el Grupo I, Grupo II y en el total de los ejemplares.

	Grupo I	Grupo II	Total
Nº Observaciones	23	20	43
Media	1,21	1,23	1,22
Desviación estándar	0,46	0,40	0,43
Coefficiente de variación (%)	38,02	32,52	35,25
Mínimo	0,57	0,75	0,57
Máximo	2,80	2,00	2,80

Tabla 6 Descripción estadística de las concentraciones séricas libres de T₄ (ng/dl) determinadas en el Grupo I, Grupo II y en el total de los ejemplares.

	Grupo I	Grupo II	Total
Nº Observaciones	23	20	43
Media	0,94	1,01	0,97
Desviación estándar	0,32	0,38	0,35
Coefficiente de variación (%)	34,04	37,62	36,08
Mínimo	0,39	0,40	0,39
Máximo	1,50	1,80	1,80

Tabla 7 Comparaciones entre los grupos I y II para cada variable mediante la prueba de t.

	T₃ total	T₃ libre	T₄ total	T₄ libre
Valor de t	1,4101	1,3615	0,1510	0,6559
Grados de libertad	41	41	41	41

Tabla 8 Límites de confianza para la concentración sérica de las hormonas T₃ (ng/ml), T₄ (µg/dl), fT₃ (pg/ml) y fT₄ (ng/dl) en equinos FSC, calculados con un 95% de confianza.

	Tamaño muestral	Media muestral	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)	Límite de confianza
T₃ total	43	62,9	31,68	50,37	53,14 – 72,66
T₃ libre	43	6,72	3,06	45,54	5,77 – 7,67
T₄ total	43	1,22	0,43	35,25	1,08 – 1,36
T₄ libre	43	0,97	0,35	36,08	0,87 – 1,07

DISCUSIÓN

El análisis de los valores obtenidos muestra una tendencia de las hormonas tiroideas a encontrarse más elevadas en el suero de hembras que en el de machos castrados. Sin embargo, al realizar la prueba de t para dos muestras independientes se obtuvo que para ninguna de las variables, ya sea T_3 , fT_3 , T_4 o fT_4 , la diferencia entre ambos grupos es estadísticamente significativa ($p > 0,05$). Esto coincide con lo encontrado por otros autores en cuanto a que no existen diferencias al comparar las concentraciones de hormonas tiroideas de machos y hembras, excepto en el caso de T_3 , que se encuentra en mayores concentraciones en machos enteros que en machos castrados o hembras (**Chen y Riley**, 1981; **Rose y Hodgson**, 1995; **Colahan *et al.***, 1998).

Las concentraciones séricas de T_4 y fT_4 corresponden con las encontradas por otros autores (**Chen y Riley**, 1981; **Messer *et al.***, 1995b; **Rose y Hodgson**, 1995; **Colahan *et al.***, 1998; **Breuhais**, 2002), no así las de T_3 y fT_3 , que son notoriamente menores. Esta marcada diferencia en las concentraciones de T_3 podría atribuirse a factores propios del laboratorio encargado del análisis, por el kit de diagnóstico usado, o a la población utilizada en este estudio, la cual es importantemente más numerosa y homogénea que las utilizadas en la literatura consultada.

Otros factores extratiroideos a considerar en esta diferencia podrían ser los distintos manejos a los que son sometidos los ejemplares muestreados en relación a los evaluados por otros autores, y los derivados de estos. Entre ellos, se pueden incluir el tipo de alimentación, el estado de *training* del ejemplar y una anamnesis errónea, la que podría encubrir la administración de distintos fármacos durante los 10 días previos a la toma de muestra, especialmente fenilbutazona (**Morris y García**, 1983; **Glade y Luba**, 1987; **Sojka *et al.***, 1993; **Allen**, 1996; **Reed y Bayly**, 1998; **Frank *et al.***, 2002).

Cualquiera sea la razón responsable de la diferencia entre los resultados hormonales encontrados y el resto de los estudios consultados, se confirma la necesidad para un laboratorio de determinar sus propios valores de referencia y que estos estén

basados en la población de individuos a la que se dirige (**Breuhau**s, 2004). Lo anterior se reafirma al considerar los resultados obtenidos por un estudio aún no publicado en equinos de raza árabe: al utilizar la misma técnica experimental se obtuvieron concentraciones de ambas hormonas tiroideas muy similares a las encontradas en este estudio (**C. Sánchez**, comunicación personal, 8 de mayo de 2008).

Las desviaciones estándares de las distintas hormonas tiroideas siguen la misma tendencia de las encontradas en otros estudios al respecto (**Chen y Riley**, 1981; **Breuhau**s, 2002). La T_3 es la hormona tiroidea que presenta una mayor variabilidad, tanto en su concentración total como libre, alcanzando un coeficiente de variación de un 50 y un 46%, respectivamente. A pesar de estos valores, la fT_3 , al ser la hormona activa, es el mejor indicador del estado tiroideo de un individuo (**Kaneko**, 1997). Además, no se ve afectada como la T_4 por la administración de fenilbutazona (**Sojka et al.**, 1993), fármaco ampliamente utilizado en la clínica de equinos, e importante factor a considerar al realizar estas mediciones en condiciones no experimentales.

Entonces, ante la sospecha de un ejemplar con hipo o hipertiroidismo, se recomienda la medición de las concentraciones totales de ambas hormonas tiroideas y de sus fracciones libres, prestando especial atención a estas últimas, pues se encuentran sujetas a una menor variabilidad (**Breuhau**s, 2004). Además, no se puede olvidar que este, como cualquier examen de laboratorio, debe ser interpretado por un médico veterinario en conjunto con la historia y los hallazgos encontrados en el examen clínico del ejemplar (**Reed y Bayly**, 1998).

CONCLUSIÓN

No existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en los valores de hormonas tiroideas entre machos castrados y hembras.

Los intervalos de referencia para las concentraciones séricas de hormonas tiroideas en equinos FSC de 2 a 5 años en *training* son 53,14 – 72,66 ng/ml T₃; 5,77 – 7,67 pg/ml fT₃; 1,08 – 1,36 µg/dl T₄; y 0,87 – 1,07 ng/dl fT₄.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se confirma la necesidad que cada laboratorio determine sus propios valores de referencia con respecto a su población objetivo y utilizando su propia técnica diagnóstica.

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, M.K.; McCann, J.P. y Woods, P.R.** 2000. Hemithyroidectomy in a horse with confirmed hyperthyroidism. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **217**(7):1051-1054.
- Allen, A.L.** 1996. Investigations into congenital hypothyroidism of foals. [en línea]. National Library of Canada. <<http://www.collectionscanada.ca/obj/s4/f2/dsk3/ftp04/nq24002.pdf> [consulta: 22 marzo 2006].
- Breuhais, B.A.** 2002. Thyroid-stimulating hormone in adult euthyroid and hypothyroid horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **16**:109-115.
- Breuhais, B.A.** 2004. Review of thyroid function and dysfunction in adult horses. [en línea]. 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Denver, CO, USA. <<http://www.ivis.org/proceedings/AAEP/2004/Breuhais/chapter.asp?LA=1>> [consulta: 15 marzo 2006].
- Buff, P.R.; Messer IV, N.T.; Cogswell, A.M.; Johnson, P.J.; Keisler, D.H. y Ganjam, V.K.** 2006. Seasonal and pulsatile dynamics of thyrotropin and leptin in mares maintained under a constant energy balance. *Domestic Animal Endocrinology* doi:10.1016/j.domaniend.2006.08.007.
- Chen, C.L. y Riley, A.M.** 1981. Serum thyroxine and triiodothyronine concentrations in neonatal foals and mature horses. *American Journal of Veterinary Research* **42**(8):1415-1417.
- Colahan, P.T.; Mayhew, I.G.; Merritt, A.M. y Moore, J.N.** 1998. Medicina y cirugía equina Vol. II, 4^a Edición. Editorial Inter-Médica, Buenos Aires, Argentina. Pp. 1605-1618.

- Cunningham, J.G.** 2003. Fisiología veterinaria, 3ª Edición. Elsevier España, Madrid, España. Pp. 324-348.
- Dellmann, H.D.** 1994. Histología veterinaria, 2ª Edición. Editorial Acribia, Zaragoza, España. Pp. 307-316.
- Dellmann, H.D. y Eurell, J.A.** 1998. Textbook of veterinary histology, 5th Edition. Lippincott Williams & Wilkins, USA. Pp. 287-295.
- Dyce, K.M.; Sack, W.O. y Wensing, C.J.G.** 1998. Anatomía veterinaria, 1ª Edición. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina. Pp. 224-228.
- Frank, N.; Sojka, J.E.; Latour, M.A.; McClure, S.R. y Polazzi, L.** 1999. Effect of hypothyroidism on blood lipid concentrations in horses. American Journal of Veterinary Research **60**(6):730-733.
- Frank, N.; Sojka, J.E. y Messer IV, N.T.** 2002. Equine thyroid dysfunction. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice **18**:305-319.
- Getty, R.** 1999. Sisson y Grossman, Anatomía de los animales domésticos Tomo I, 5ª Edición. Masson, Barcelona, España. Pp. 615-617.
- Glade, M.J. y Luba, N.K.** 1987. Serum triiodothyronine and thyroxine concentrations in weanling horses fed carbohydrate by direct gastric infusion. American Journal of Veterinary Research **48**(4):578-582.
- GraphPad Software Inc.** QuickCalcs Online Calculators for Scientists. [en línea]. <<http://graphpad.com/quickcalcs/ttest1.cfm>> [consulta: 05 julio 2007].
- Guyton, A.C. y Hall, J.E.** 1999. Tratado de fisiología médica, 9ª Edición. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, España. Pp. 1033-1046.
- Irvine, C.H.G.** 1984. Hypothyroidism in the foal. Equine Veterinary Journal **16**(4):302-306.
- Johnson, P.J.; Messer IV, N.T.; Ganjam, V.K.; Thompson Jr., D.L.; Refsal, K.R.; Loch, W.E. y Ellersieck, M.R.** 2003. Effects of propylthiouracil and

bromocryptine on serum concentrations of thyrotrophin and thyroid hormones in normal female horses. *Equine Veterinary Journal* **35**(3):296-301.

Kaneko J.J.; Harvey, J.W. y Bruss, M.L. 1997. *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5th Edition. Academic Press, San Diego, CA, USA. Pp. 571-588.

Levy, M.N.; Koeppen, B.M. y Stanton, B.A. 2006. *Berne y Levy, Fisiología*, 4^a Edición. Harcourt Brace-Elsevier, Madrid, España. Pp. 548-558.

Li, M.D. y Ford, J.J. 1998. A comprehensive evolutionary analysis based on nucleotide and amino acid sequences of the α - and β - subunits of glycoprotein hormone gene family. *Journal of Endocrinology* **156**:529-542.

Messer, N.T.; Ganjam, V.K.; Nachreiner, R.F. y Krause, G.F. 1995a. Effect of dexamethasone administration on serum thyroid hormone concentrations in clinically normal horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **206**(1):63-66.

Messer, N.T.; Johnson, P.J.; Refsal, K.R.; Nachreiner, R.F.; Ganjam, V.K. y Krause, G.F. 1995b. Effect of food deprivation on baseline iodothyronine and cortisol concentrations in healthy, adult horses. *American Journal of Veterinary Research* **56**(1):116-121.

Messer IV, N.T.; Riddle, W.T.; Traub-Dargatz, J.L.; Dargatz, D.A.; Refsal, K.J. y Thompson Jr., D.L. 1998. Thyroid hormone levels in thoroughbred mares and their foals at parturition. *AAEP Proceedings Vol. 44*:248-251.

Morris, D.D. y García, M. 1983. Thyroid-stimulating hormone: response test in healthy horses, and effect of phenylbutazone on equine thyroid hormones. *American Journal of Veterinary Research* **44**(3):503-507.

Mosso G., Lorena. 2000. Síndrome del paciente eutiroideo enfermo. [en línea]. *Boletín de la Escuela de Medicina Vol. 29, No. 3*, Pontificia Universidad Católica de Chile. <<http://escuela.med.puc.cl/publ/boletin/Tiroidea/SindromePaciente.html>> [consulta: 17 enero 2007].

- Reed, S.M. y Bayly, W.M.** 1998. Equine internal medicine, 1st Edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, USA. Pp. 916-925.
- Rose, R.J. y Hodgson, D.R.** 1995. Manual clínico de equinos, 1^a Edición. Nueva Editorial Interamericana, México, D.F. Pp. 476-480.
- Sojka, J.E.; Johnson, M.A. y Bottoms, G.D.** 1993. Serum triiodothyronine, total thyroxine, and free thyroxine concentrations in horses. American Journal of Veterinary Research **54**(1):52-55.
- Vischer, C.M.; Foreman, J.H.; Constable, P.D.; Benson, G.J.; Kline, K.H., Freeman, D.E.; Campbell, K.L. y Grubb, T.L.** 1999. Hemodynamic effects of thyroidectomy in sedentary horses. American Journal of Veterinary Research **60**(1):14-21.

ANEXOS

Anexo 1 Concentraciones séricas de tiroxina y triyodotironina en equinos. Rangos observados; media \pm desviación estándar entre paréntesis; CPB, *competitive protein binding assay*; RIA, *radioimmunoassay* (**Kaneko *et al.***, 1997).

	T ₄ CPB ($\mu\text{g/dl}$)	T ₄ RIA ($\mu\text{g/dl}$)	T ₃ RIA (ng/dl)	Referencia
Adultos	0,9 – 2,8			Kaneko (1980)
	(1,9)			
	1,46 – 3,38			Kallfelz y Lowe (1970)
	(2,57 \pm 0,71)			Thomas y Adams (1978)
				Irvine y Evans (1975)
		(1,55 \pm 0,27)	(55,34 \pm 33,85)	Messer <i>et al.</i> (1995)
Potrillos		2,0 – 3,3	110 – 130	Osame e Ichijo (1994)
		(2,67 \pm 0,50)	(117 \pm 12)	
Destete		2,1 – 2,8	48 – 62	Glade y Luba (1987)

Anexo 2 Ficha de Registro para equinos en estudio.

FICHA DE REGISTRO INDIVIDUAL

MUESTRA N°

FECHA

HORA

NOMBRE

RAZA

COLOR

SEXO

EDAD

PESO

PROCEDENCIA

EXAMEN CLÍNICO

Frecuencia cardiaca

Frecuencia respiratoria

Temperatura rectal

OBSERVACIONES

HEMOGRAMA

SERIE ROJA

		<u>Intervalo de Referencia*</u>
Eritrocitos		6.000.000-12.000.000
VGA (Hematocrito)	%	32-48
Hemoglobina	%	10-18
Reticulocitos	%	
VCM	ft	34-58
ChbCM	g%	31-37

MORFOLOGÍA

Normales	_____	Anisocitosis	_____	Poiquilocitosis	_____
Microcitosis	_____	Policromatofilia	_____	Hipocromía	_____
Macroцитosis	_____	Eritroblastos	_____	Otros	_____

SERIE BLANCA

		<u>Intervalo de Referencia*</u>
Leucocitos	/mm ³	6.000-12.000

FÓRMULA LEUCOCITARIA

Eosinófilos	0-800
Basófilos	0-300
Mielocitos	
Juveniles	
Baciliformes	0-240
Segmentados	3.000-6.000
Linfocitos	1.500-5.000
Monocitos	0-600

SERIE PLAQUETARIA

Plaquetas Intervalo de Referencia*
/mm³ 100.000-600.000

Normales _____ Macroplaquetas _____ Microplaquetas _____

ESD OBSERVADA _____ mm/hora ESD CORREGIDA _____ mm/hora

OBSERVACIONES _____

PERFIL BIOQUÍMICO

		<u>Intervalo de Referencia*</u>
Proteínas totales	g/dl	5,2 - 7,9
Albúmina (A)	g/dl	2,6 - 3,7
Globulinas (G)	g/dl	2,6 - 4,0
Índice A/G		0,8 - 1,0
Colesterol	mg/dl	70,0 - 150,0
Calcio	mg/dl	11,2 - 13,6
Fósforo	mg/dl	3,1 - 5,6
Glucosa	mg/dl	75,0 - 115,0
NUS (Nitrógeno Ureico Sanguíneo)	mg/dl	10,0 - 24,0
Creatinina	mg/dl	1,2 - 1,9
Creatinfosfoquinasa (CPK)	U/L	160,0 - 330,0
GOT (Transaminasa oxaloacética)	U/L	226,0 - 366,0
GGT (Gamma glutamil transferasa)	U/L	4,3 - 13,4
FA (Fosfatasa alcalina)	mg/dl	70,1 - 226,8
Bilirrubina total	mg/dl	0,3 - 3,0

MEDICIONES HORMONALES

Triyodotironina total (T ₃)	ng/ml
Triyodotironina libre (fT ₃)	pg/ml
Tiroxina total (T ₄)	μg/dl
Tiroxina libre (fT ₄)	ng/dl

* Intervalo de Referencia LQCE Equino.