



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

**CARACTERIZACIÓN ENDÓCRINO-TIROIDEA EN CANINOS MACHOS Y HEMBRAS
DE LA RAZA BULLDOG**

Por

Marisa GIMÉNEZ
Analía SOLER

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias
Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Ensayo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2017

PÁGINA DE APROBACIÓN

TESIS aprobada por:

Presidente de mesa: _____

Segundo Miembro (Tutor): _____

Tercer Miembro: _____

Cotutor: _____

Fecha:

Autores: _____

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a nuestros tutores; Dra. Paula Pessina y Dr. Danilo Fila, por brindarnos sus conocimientos y guiarnos en el transcurso de elaboración de esta tesis.

Al equipo del Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal; a la Dra. Ana Meikle, por recibirnos y aportar sus conocimientos; a las preparadoras, Isabel y Claudia, que nos ayudaron y asesoraron en el funcionamiento de los distintos equipos utilizados; a Matilde y Andys por su colaboración.

Al personal de biblioteca por su buena predisposición.

A los propietarios de los criaderos y veterinarias particulares; Giovana Forrisi, Erika Castroman, Veterinaria Centenario, Veterinaria Don Quijote, que colaboraron con las muestras de sangre de los caninos.

A nuestras familias y amigos por el apoyo incondicional.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	7
RESUMEN	8
SUMMARY	9
INTRODUCCIÓN	10
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	12
LA GLÁNDULA TIROIDES	12
Anatomía	12
Histología	13
Embriología	13
Regulación de la glándula tiroides	14
Fisiología de la glándula tiroides	15
Efectos de las hormonas tiroideas en el organismo	17

Hipotiroidismo	19
Diagnóstico de laboratorio	20
LA RAZA BULLDOG	22
HIPÓTESIS	24
OBJETIVOS	24
General	24
Específicos	24
MATERIALES Y MÉTODOS	25
Determinación de hormonas y metabolitos	25
Análisis estadístico	25
RESULTADOS	26
Variables endócrinas	26
T4 Total (T4T)	26
T4 Libre (T4L)	28
Tirotropina (TSH)	29
Variables metabólicas	31
Colesterol y Triglicéridos	31
DISCUSIÓN	32
Efecto de la raza sobre las variables endócrinas y metabólicas	32

Efecto del sexo sobre las variables endócrinas y metabólicas	33
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFÍA	36

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

- Figura 1. Corte transversal de la glándula Tiroides.
- Figura 2. Eje-Hipotálamo-Hipófiso-Tiroideo.
- Figura 3. Fisiopatología reproductiva del hipotiroidismo.
- Figura 4. Concentración sérica de T4T para la raza Bulldog inglés (BDI), Bulldog francés (BDF), Ovejero alemán (OA) y cruza.
- Figura 5. Concentración sérica de T4T para los grupos hembras y machos.
- Figura 6. Concentraciones séricas de T4L para la raza Bulldog inglés (BDI), Bulldog francés (BDF), Ovejero alemán (OA) y cruza.
- Figura 7. Concentraciones séricas de T4L para los grupos hembras y machos.
- Figura 8. Concentraciones séricas de TSH para la raza Bulldog inglés (BDI), Bulldog francés (BDF), Ovejero alemán (OA) y cruza.
- Figura 9. Concentraciones séricas de TSH para los grupos hembras y machos.
- Figura 10. Concentraciones séricas de Colesterol (A) y Triglicéridos (B) para la raza Bulldog inglés (BDI), Bulldog francés (BDF), Ovejero alemán (OA) y cruza. Concentraciones séricas de Colesterol (C) y Triglicéridos (D) para los grupos hembras y machos.
- Tabla 1. Valores de referencia de hormonas tiroideas, TSH, Colesterol y Triglicéridos en caninos.
- Tabla 2. Valores de significancia (P) para los efectos fijos raza y sexo sobre las diferentes variables estudiadas.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar, en la raza Bulldog, los niveles séricos de hormonas y metabolitos utilizados en la evaluación de la función tiroidea e investigar si existe un efecto de la raza y el sexo sobre ellos. En el diseño experimental se utilizaron 49 caninos clínicamente sanos, 24 de la raza Bulldog inglés, de ambos sexos (8 machos y 16 hembras) y 25 de la raza Bulldog francés, de ambos sexos (7 machos y 18 hembras). La determinación de Tiroxina total (T4T), Tiroxina libre (T4L) y de Tirotropina (TSH) en suero se realizó por inmunoanálisis quimioluminiscente enzimático competitivo en fase sólida. Las concentraciones de colesterol y triglicéridos se analizaron por espectrofotometría. Las concentraciones séricas de las hormonas tiroideas, TSH, colesterol y triglicéridos para los caninos de la raza Bulldog (inglés y francés) comprendidos en el estudio se encontraron dentro de los rangos de referencia internacionales para la población canina. Se encontró un efecto significativo de la raza sobre las concentraciones séricas hormonales, presentando la raza Bulldog (inglés y francés) niveles mayores T4T y menores de TSH que el grupo control. El sexo sólo afectó significativamente los niveles séricos de T4L, siendo estos niveles mayores en las hembras con respecto a los machos. Las concentraciones séricas de Colesterol y Triglicéridos no estuvieron afectadas por la raza ni por el sexo de los animales en estudio. Se concluye que en perros sanos de la raza Bulldog inglés y francés, las concentraciones séricas de T4T y TSH, se ven afectadas por la raza, mientras que la concentración de T4L se ve afectada por el sexo de los caninos.

SUMMARY

The aim of this study was to determine, in the Bulldog breed, the serum concentrations of the hormones and metabolites used in the evaluation of thyroid function and to see if there is an effect of breed and sex on them. In the experimental design, 49 healthy canines, 24 English Bulldog, of both sexes (8 males and 16 females) and 25 French Bulldog, of both sexes (7 males and 18 females) were used. Determination of Total Thyroxine (TT4), Free Thyroxine (FT4) and Thyrotropin (TSH) in serum was performed by competitive enzymatic chemiluminescent solid-phase immunoassay. Cholesterol and triglyceride concentrations were analyzed by spectrophotometry. Serum concentrations of thyroid hormones, TSH, cholesterol and triglycerides for Bulldog breed canines (English and French) included in the study were within the international reference ranges for the canine population. Breed had a significant effect on serum hormone concentrations. Accordingly, Bulldog breed (English and French) presented higher levels of TT4 and lower of TSH than the control group. Sex only had a significant effect on serum levels of FT4, these levels being higher in females when compared to males. The serum concentrations of Cholesterol and Triglycerides were not affected by breed or sex of the animals under study. It is concluded that in healthy English and French Bulldogs, the concentration of serum TT4 and TSH are affected by breed, while the concentration of FT4 is affected by the dog's sex.

INTRODUCCIÓN

El hipotiroidismo es la patología endócrina que se diagnostica con mayor frecuencia en el perro. Es una enfermedad multisistémica que se origina por una producción y secreción inadecuada de hormonas tiroideas afectando prácticamente a todos los sistemas del organismo.

La confirmación definitiva de hipotiroidismo se realiza mediante determinación de las concentraciones séricas de hormonas tiroideas: Tiroxina Total (T4T), Tiroxina Libre (T4L) y Hormona Estimulante de la Tiroides (TSH). Si bien un animal hipotiroideo presenta T4T y T4L disminuidas, la concentración de T4L proporciona una valoración más precisa de la función tiroidea al momento del diagnóstico, debido a que representa la fracción de hormona biológicamente activa y además se altera en menor medida por factores extratiroideos que la T4T. Por otro lado, la concentración sérica de TSH debería encontrarse elevada en un paciente con hipotiroidismo, por esta razón se elige como primera línea de test junto con determinación de T4T y T4L para el diagnóstico de esta patología en el perro (Mooney y Peterson, 2007).

Dado que las hormonas tiroideas regulan tanto la síntesis como la degradación del colesterol e intervienen en la movilización de lípidos y lipólisis, las anomalías clinicopatológicas más constantes en los pacientes hipotiroideos son la hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia. Por este motivo es de suma importancia al momento del diagnóstico de la enfermedad realizar un perfil lipídico completo.

Existen variaciones en las concentraciones de las hormonas tiroideas (T4T y T4L) por algunas situaciones fisiológicas como ser la raza, edad y estado reproductivo de la hembra.

Pancieria (1997) reportó que los caninos Lebreles tienen una menor concentración de T4T que la mayoría de las otras razas, con frecuencia los valores se encuentran por debajo de los rangos de referencia para otras razas. Asimismo, un estudio que evaluó el estatus tiroideo en la raza Basenji en Australia, documentó un rango de referencia considerablemente menor para la T4T que en la mayoría de las razas, no así para la TSH que mostró valores concordantes (Seavers y col., 2008). Resultados similares se encontraron en la raza Whippet, donde los valores promedio de T4T fueron significativamente inferiores al grupo control, no observándose diferencias significativas entre esta raza y los controles para los valores de TSH y T4L (Van Geffen y col., 2006). Hegstad-Davies y col. (2015) realizaron valoraciones de T4T, T4L y TSH en siete razas

caninas con el fin de determinar si el uso de valores de referencia específicos de la raza en estos animales estaría justificado. En el estudio se encontró que la media de concentración en suero de T4T, T4L y TSH varió significativamente entre las razas y la magnitud de las diferencias fue sustancial. Al incluir la variable sexo en el modelo experimental, los resultados arrojaron concentraciones medias en suero de T4T y T4L más altas en hembras en comparación con los machos. Se concluyó que hubo una variabilidad específica de la raza en la concentración en suero de T4T, T4L y TSH en las siete razas estudiadas, y que el uso de valores de referencia específicos de la raza para estos animales está justificado.

Se ha demostrado que los niveles plasmáticos de T4T son significativamente más altos durante el diestro y durante la preñez, no existiendo diferencias entre caninos machos y hembras en anestro, proestro o durante la lactación (Johnson, 1994).

La edad también influye sobre las concentraciones de T4T circulante, que disminuyen progresivamente a un rango medio-normal en los animales de mediana edad, a valores normal-bajos en pacientes mayores (Mooney y Peterson, 2007).

En nuestro país, en los últimos años, la raza Bulldog, tanto inglés como francés, es una de las que ha despertado mayor interés, ganándose la atención y simpatía de la población en general. Posee además un valor económico elevado y esto ha hecho que el profesional veterinario se interese en ella tratando de responder a las dificultades que la crianza de esta raza ofrece.

Según Gough y Thomas (2008) así como también la base de datos de desórdenes caninos hereditarios de la Universidad de la Isla del Príncipe Eduardo, en Canadá, el hipotiroidismo es considerado como una patología de riesgo elevado en el Bulldog inglés y se encuentra dentro de los desórdenes que tienen una incidencia creciente en esta raza.

A raíz de estos antecedentes se desprende la importancia o la necesidad de saber si existen variaciones en las concentraciones séricas de hormonas tiroideas, TSH y metabolitos asociados, en la raza Bulldog. Esta tesis plantea evaluar la situación endocrino-tiroidea en la raza y de esta forma aportar elementos que puedan ser de utilidad al momento del diagnóstico de hipotiroidismo.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

LA GLÁNDULA TIROIDES

ANATOMÍA

La tiroides es una glándula endocrina típica de los vertebrados, que se caracteriza por tener un alto grado de vascularización, estructura compacta y un color rojizo (Sisson y col., 1982). Es un órgano de origen endodérmico impar y simétrico, formado por dos lóbulos definidos, ubicados en sentido lateral y algo en ventral respecto del quinto al octavo anillo traqueal (Scavelli y Peterson, 1992). A diferencia de lo que se encuentra en el hombre, el istmo que conecta ambos lóbulos es indefinido en perros adultos, siendo a veces la excepción razas grandes o braquicéfalas (Belshaw, 1989), en las cuales se presenta como una cinta glandular de 1cm de ancho (Osorio y Salazar, 2011). El tamaño es variable, en perros adultos cada lóbulo tiene aproximadamente 5cm de largo y 1,5cm de ancho (Scavelli y Peterson, 1992) y el volumen tiroideo oscila entre 0,2 a 1,5 cm³ según el tamaño del animal (Peterson y Ferguson, 1992). Los lóbulos son proporcionalmente más grandes en perros inmaduros y razas braquicéfalas.

La irrigación vascular de la glándula está dada principalmente por dos vasos: la arteria tiroidea anterior que proviene de una rama de la carótida común y la arteria tiroidea posterior que tiene origen en la arteria cefálica. El drenaje venoso de la tiroides se realiza con las venas tiroideas anterior y posterior, en los correspondientes polos de cada lóbulo. La inervación de la glándula tiroides es de dos tipos: simpática (nervio simpático cervical) y parasimpática (nervio laríngeo superior y laríngeo recurrente, ambos procedentes del nervio vago). El tejido tiroideo ectópico se presenta en muchos perros y gatos, éste puede residir en cualquier punto, desde la base de la lengua hasta la base cardíaca, ya que guarda relación con el desarrollo de la tiroides en la etapa embrionaria (Belshaw, 1989; Peterson y Ferguson, 1992). El tejido ectópico es significativo, por cuanto la tiroidectomía quirúrgica no lo eliminará, lo cual lleva a su hiperplasia y finalmente reaparición del funcionamiento glandular (Belshaw, 1989). La glándula tiroides normal en el perro, no es palpable (Osorio y Salazar, 2011).

HISTOLOGÍA

Desde el punto de vista histológico la glándula está formada por la agrupación de folículos. El folículo es la unidad funcional, tiene una apariencia más o menos esférica con una cavidad central, normalmente ocupada por una sustancia coloide y rodeada de una monocapa de células epiteliales cuboides, de 15-150 μm de diámetro, el tirocito (Mayayo y col., 2000)¹. La cara del tirocito en contacto con el coloide o cara apical está constituida por una membrana festoneada de microvellosidades. La cara opuesta o basal está orientada hacia el exterior del folículo y está delimitada por una membrana basal gruesa en contacto con los capilares sanguíneos fenestrados. Las caras celulares laterales están unidas por desmosomas a las caras laterales de otros tirocitos.

En los folículos se produce la síntesis de las hormonas T4 (tiroxina) y T3 (3,5,3'-triyodotironina) (Pocock y Richards, 2005). Entre los folículos encontramos también otro tipo de células, las parafoliculares o células C, productoras y secretoras de calcitonina, hormona importante en la regulación del calcio (Rijnberk, 1996). El coloide contiene gránulos de glicoproteína, la tiroglobulina (Tg) principalmente, producto de la actividad secretora de las células foliculares. Este coloide es la principal forma de almacenamiento de las hormonas tiroideas (Osorio y Salazar, 2011).

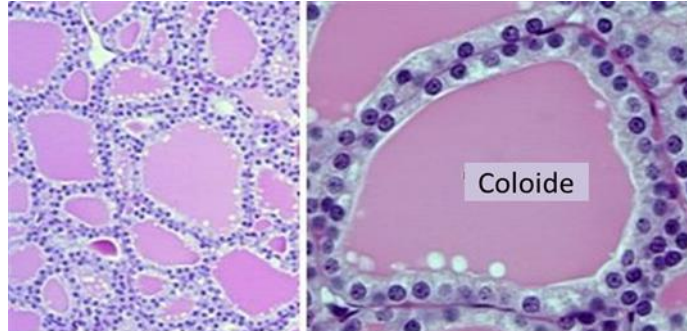


Figura 1. Corte transversal de la glándula Tiroides.

EMBRIOLOGÍA

La tiroides es la primera glándula endócrina que aparece en el desarrollo embrionario de los mamíferos (Mansberger y Wei, 1993). El origen de la misma es endodérmico y se forma como un apéndice en la cuarta y quinta bolsa faríngea. El desarrollo de la tiroides empieza por un engrosamiento medio en el suelo de la faringe primitiva que acaba

¹ Ver figura 1.

siendo un divertículo que se expande caudalmente. Las células tiroideas están al final del divertículo o conducto tirogloso. Luego la glándula se torna bilobulada, va creciendo y descendiendo, el conducto tirogloso se adelgaza, elonga y degenera. Después de fracturarse el tirogloso, la tiroides alcanza su localización anatómica definitiva. La migración de la tiroides, como el inicio de su funcionalidad, están regidos por factores de transcripción, siendo los más importantes el TTF-1, PAX-8 (regulan el desarrollo y sobrevivencia del tirocito) y el TTF-2 (regula la migración tiroidea). Al final del desarrollo embrionario, se expresa el R-TSH (receptor de TSH, organificación) y por último el gen de la Tg y la TPO (tiroperoxidasa) (Castillo, 2010).

REGULACIÓN DE LA GLÁNDULA TIROIDES

La principal regulación de la función tiroidea es a través de la hipófisis mediante la hormona estimulante del tiroides TSH (tirotropina). La TSH es una glucoproteína segregada por las células tirotropas adenohipofisarias, tiene una vida media sérica relativamente corta, aproximadamente 10 a 15 minutos. Su interacción con el receptor localizado en la membrana basal del tirocito aumenta la síntesis de las hormonas tiroideas (T4 y T3) en los folículos, puesto que participa en todos los pasos biosintéticos además de estimular la liberación de T4 y T3 hacia la circulación sistémica. Por lo tanto, también, favorece la hipertrofia e hiperplasia de la tiroides. El control mediante retroalimentación negativa de la secreción de TSH está mediado por las propias hormonas tiroideas, principalmente por la T3, que actúa directamente en la hipófisis e hipotálamo (Eje Hipotálamo-Hipófiso-Tiroideo)². Este mecanismo de retroalimentación T4/T3-TSH está regulado por la hormona hipotalámica TRH (hormona liberadora de tirotropina), la cual luego de segregarse es llevada por el sistema porta-hipofisario hasta las células de la adenohipófisis donde interactúa con su receptor de membrana. La TRH tiene dos acciones principales sobre las células tirotropas: produce la liberación al torrente sanguíneo de la TSH ya sintetizada y almacenada en los gránulos de secreción, y a su vez activa la síntesis de TSH. A nivel de la hipófisis, la T3 inhibe la liberación de TSH inducida por TRH y la expresión de los genes de TSH alfa y beta (Dieguéz y Aguilar, 1997). A nivel hipotalámico existen receptores para T3 y esta hormona inhibe la expresión del gen de TRH así como su síntesis. La T3 reduce aún más la liberación de TSH al disminuir el número de receptores de TRH.

² Ver figura 2.

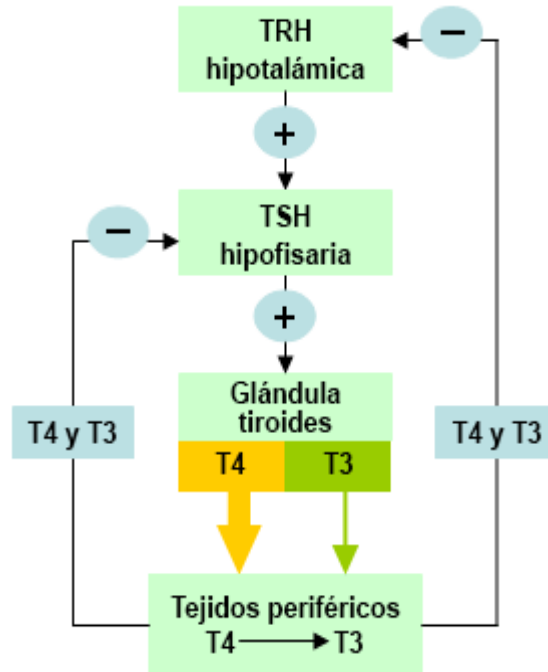


Figura 2. Eje Hipotálamo-Hipófiso-Tiroideo.

Por otro lado, en la regulación de las hormonas tiroideas participan otras hormonas como la insulina, a través del receptor IGF-I, la somatostatina, que inhibe el efecto proliferativo ejercido por la TSH, y también el cortisol y otros glucocorticoides que inhiben la liberación de TSH (Arce y col., 2006; Melián y Pérez, 2008).

FISIOLOGÍA DE LA GLÁNDULA TIROIDES

La glándula tiroidea secreta principalmente T4 y en menor cantidad T3 (Castillo, 2010). El yodo es fundamental en la síntesis de estas hormonas, siendo utilizado para yodación de la proteína tiroglobulina (Tg) para obtener las formas finales de las hormonas tiroideas. Debido a la morfología del folículo tiroideo, la tiroidea está conformada no sólo para transportar, sino para almacenar el yodo para cumplir con demandas futuras, mostrando una adaptación notable a la escasez de yodo en el ambiente (Dohan y Carrasco, 2003). La principal fuente de yodo proviene de los alimentos y del agua. Al ser ingerido en la dieta, alcanza la circulación en forma de yoduro y se absorbe como tal en el tracto gastrointestinal. Una vez circulante, es captado especialmente por la glándula tiroidea a través del simportador NIS, que consiste en una glucoproteína presente en la membrana plasmática de las células

foliculares y permite el transporte activo de yodo al interior de las células (Osorio y Salazar, 2011).

Una vez que se encuentra en el lumen folicular, se lleva a cabo un paso crítico en la formación de las hormonas tiroideas: la conversión de iones yoduro a una forma oxidada de yodo, reacción catalizada por la enzima tiroperoxidasa (TPO), mediante la presencia de peróxido de hidrógeno (Roche y Michel, 1955). Cuando el sistema de la enzima peroxidasa se bloquea, o existe una ausencia congénita de esta enzima, la capacidad de síntesis de hormonas tiroideas es nula (Nussey y Whitehead, 2001). El yodo oxidado, se une directamente al aminoácido tirosina de la Tg, lo cual es eficiente gracias a la enzima yodasa, que cataliza la unión. Así, a medida que la Tg se libera al lumen folicular, el yodo se une a una molécula de tirosina. De esta manera, las hormonas tiroideas se forman dentro de la Tg, es decir, la T4 y T3 formadas a partir de la tirosina hacen parte de la molécula de Tg durante la síntesis de más hormonas y durante el almacenamiento dentro del coloide en el lumen folicular (Osorio y Salazar, 2011).

Los productos yodados iniciales son la monoyodotirosina (MIT) y la diyodotirosina (DIT), proceso que también es catalizado por la TPO. El acoplamiento de dos moléculas de tirosina yodada permite la aparición de las hormonas tiroideas, dos moléculas de DIT unidas forman T4 y la unión de una MIT y una DIT forman T3. Al finalizar la síntesis hormonal, cada molécula de Tg contiene hasta 30 moléculas de T4 y algunas de T3. En un canino normal, aproximadamente el 30% de la masa tiroidea corresponde a Tg, lo que equivale a una cantidad suficiente de hormona para cubrir las necesidades del organismo durante dos a tres meses. Por esta razón, cuando cesa la síntesis hormonal, los efectos fisiológicos causados por el déficit tardan meses en aparecer (Goodman, 2009).

La Tg como tal no se libera a la sangre en cantidades significativas. Por esta razón, debe pasar por un proceso de escisión para que así puedan separarse la T4 y T3 y sea posible enviarlas a través del torrente sanguíneo a los diferentes tejidos blanco. Este proceso se lleva a cabo por estimulación aguda de TSH. Desde la superficie apical de la célula se emiten pseudópodos, que captan pequeñas porciones del coloide luminal formando vesículas pinocíticas. Las mismas entran de nuevo a la célula y se fusionan con los lisosomas ricos en proteasas, las cuales van hidrolizando la Tg hasta la liberación de todos sus aminoácidos, MIT, DIT, T4 y T3. Solamente la T4 y T3 son liberadas a la sangre, en una relación 20:1. Alrededor del 93% de las hormonas liberadas por la glándula tiroidea corresponde en condiciones normales a la T4 y solo el 7% a la T3 (Osorio y Salazar, 2011). Las hormonas tiroideas al ser liposolubles, son transportadas en sangre unidas a proteínas plasmáticas específicas sintetizadas en el

hígado. Luego de llegar al torrente sanguíneo, el 99% de T4 y T3 se combinan con estas proteínas, de las cuales la más importante es la globulina fijadora de tiroxina (TBG), siendo menos utilizadas la albúmina y prealbúmina ligadora de tiroxina (Osorio y Salazar, 2011). Los cambios en la síntesis y degradación, o cambios en la estructura o disponibilidad de estas proteínas transportadoras, afectan directamente la concentración de T3 y T4 circulantes. El equilibrio entre hormona libre y ligada, se desplaza con facilidad debido a situaciones fisiológicas o farmacológicas, como el incremento de las concentraciones de estrógenos durante la gestación. Los estrógenos aumentan la síntesis hepática de TBG con el consiguiente desplazamiento hacia la forma ligada (T4T) (Klein, 2014). Sólo una pequeña cantidad de la hormona permanece libre; esta fracción es la biológicamente activa y se encuentra disponible para actuar a nivel tisular (Kaptein y col., 1994). Aproximadamente el 0.1% de la T4 y el 1% de la T3 se encuentran libres en suero (Scavelli y Peterson, 1992; Kaptein y col., 1994), esto se debe a la mayor afinidad de las hormonas a las proteínas ligadoras en el plasma de los caninos con respecto a otras especies, donde los porcentajes de hormonas libres son mayores. Toda la T4 normalmente es elaborada en la tiroides, mientras que la mayor parte de la T3 se forma mediante la desyodinación extratiroidea de la T4, en los tejidos periféricos (hígado, músculo, riñones) por acción de la enzima desyodasa tipo I, debido a esto la T3 es la hormona empleada en los tejidos. De esta misma forma también se puede formar T3 reversa (rT3), la cual es biológicamente inactiva y se forma exclusivamente por acción de enzimas desyodinasas extratiroideas. La proporción de conversión de T4 a T3 o T3r depende del estado metabólico del organismo (Larsen y Berry, 1994). Sólo la hormona libre está disponible para su uso en los diferentes tejidos. Por ende, los mecanismos homeostáticos que regulan el eje tiroideo, pretenden mantener concentraciones adecuadas de hormonas libres. Los ajustes para mantener una cantidad normal de hormona libre, se producen rápidamente con un descenso abrupto en la tasa metabólica o estimulando la producción de hormonas tiroideas al liberarse TSH (Klein, 2014).

EFFECTOS DE LAS HORMONAS TIROIDEAS EN EL ORGANISMO

Los efectos metabólicos de la hormona tiroidea incluyen: el estímulo del consumo celular de oxígeno y del metabolismo basal; la promoción del crecimiento y de la maduración celular; el aumento del ritmo, del gasto cardíaco y del flujo sanguíneo, así como la regulación de metabolismo de lípidos y de carbohidratos (Melián y Pérez, 2008). El buen funcionamiento de las vías metabólicas depende de las hormonas tiroideas, las que tienen efectos específicos sobre diferentes órganos, manteniendo la homeostasis entre todos los tejidos (Osorio y Salazar, 2011).

Las hormonas tiroideas y reproductivas están íntimamente relacionadas, existiendo una interacción directa entre ellas. Un ejemplo de esto es cómo la hormona TRH estimula a nivel hipofisario, no sólo la secreción de TSH sino también la de prolactina. Esta última al tener un efecto inhibitorio sobre la liberación de gonadotropinas (LH y FSH) y la producción de esteroides gonadales (testosterona, estrógenos, progesterona) podría asociarse con la infertilidad en caninos hipotiroideos ³ (Johnson, 1994). Las hormonas tiroideas tienen además un efecto directo en la concentración de algunas proteínas y enzimas a nivel plasmático, como la proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG). Estas observaciones respecto a las hormonas tiroideas y reproductivas han sugerido la posibilidad de relaciones de causa y efecto entre la tiroides y los trastornos reproductivos (Osorio y Salazar, 2011).

En caninos se demostró que los niveles plasmáticos de T4T son significativamente más altos durante el diestro y durante la preñez que en ningún otro estadio reproductivo. Es decir, no difieren entre caninos machos y hembras en anestro, proestro o durante la lactación (Johnson, 1994).

Uno de los efectos más notables de las hormonas tiroideas es en el crecimiento corporal. El crecimiento del neonato y el desarrollo hasta alcanzar el tamaño de un adulto normal requieren del normal funcionamiento de la glándula tiroides, además las hormonas tiroideas tienen un rol decisivo en el desarrollo fetal, particularmente de los sistemas neurológico y esquelético en todas las especies (Arce y col., 2006).

³ Ver figura 3.

FISIOPATOLOGIA REPRODUCTIVA DEL HIPOTIROIDISMO

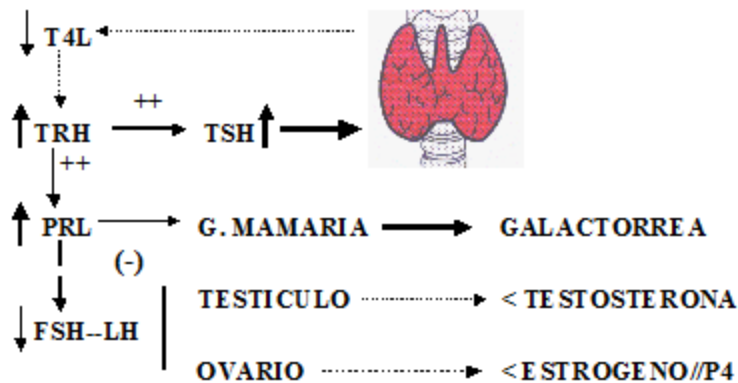


Figura 3. Fisiopatología reproductiva del hipotiroidismo.

HIPOTIROIDISMO

El hipotiroidismo es el síndrome clínico que resulta de una producción deficiente de hormona tiroidea. Es la patología endócrina que se diagnostica con mayor frecuencia en el perro. La causa más corriente es el hipotiroidismo primario, que se origina en la propia glándula tiroidea, y representa más del 95% de los pacientes hipotiroideos. Aproximadamente la mitad de ellos son consecuencia de una tiroiditis linfocítica (inmunomediada) y el resto de los casos son causados por una atrofia idiopática de la glándula tiroidea (Mooney y Peterson, 2007; Melián y Pérez, 2008).

Los signos clínicos más característicos del hipotiroidismo se relacionan con un enlentecimiento generalizado del metabolismo (hipometabolismo), con implicación de casi todos los órganos y sistemas, y presenta efectos sobre el estado mental y actividad del perro. Los mismos, no son específicos y se hacen evidentes después de haberse destruido una cantidad considerable de tejido tiroideo (Melián y Pérez, 2008). La mayoría de los perros adultos hipotiroideos exhiben signos que incluyen cierto grado de embotamiento mental, letargia, intolerancia al esfuerzo o rechazo al ejercicio, y tendencia al aumento de peso. Las alteraciones cutáneas y del pelaje son los signos más comunes observados. La alopecia troncal aprurítica simétrica bilateral es el signo clásico, además puede aparecer hiperpigmentación, hiperqueratosis, escamas, seborrea seca con pelaje seco y deslustrado y en casos graves mixedema. Las manifestaciones clínicas más corrientes del sistema neuromuscular incluyen miopatía, debilidad muscular y parálisis del nervio facial, debilidad y apoyo de nudillos, o arrastre

de los dedos como resultado de neuropatías periféricas. Las anomalías del sistema cardiovascular no son comunes, sin embargo, pueden incluir bradicardia y choque de punta débil (Feldman y Nelson, 2007).

Las alteraciones reproductivas, son poco frecuentes; se ha documentado que las perras con esta enfermedad pueden tener un anestro persistente, o una conducta de estro anormal y ser poco receptivas a los machos (Peter y col., 1989). La enfermedad está asociada a infertilidad y a una baja tasa de concepción, que oscila entre 33 y 50%. Los abortos en mitad de gestación y mortinatos a término son comunes (Johnson y col., 1987). Se demostró experimentalmente que la mortalidad perinatal y el peso al nacimiento es menor en cachorros nacidos de hembras hipotiroideas que no hayan recibido tratamiento. Al mismo tiempo, se vio que las anomalías reproductivas son revertidas cuando dichas hembras reciben tratamiento (levotiroxina) (Panciera y col., 2012). En otro estudio, se comprobó que la inducción de un hipotiroidismo de relativamente corta duración no afectó el intervalo interestro, la tasa de concepción, el tamaño de camada, o el tiempo de gestación en perras. Sin embargo, el parto fue prolongado y los cachorros fueron más pequeños y propensos a sufrir muerte perinatal (Panciera y col., 2007). Además, se ha descrito una galactorrea persistente asociada a hiperprolactinemia, debido a la ausencia de feedback negativo de las hormonas tiroideas en el hipotálamo, resultando en un aumento de la hormona TRH, la cual es un potente estimulador de la secreción de prolactina (Johnson, 2002). En machos también se ha descrito atrofia testicular, disminución de la libido y baja producción de esperma (Beale y col., 1992). Algunos autores, sin embargo, aseguran que no se han podido constatar tales relaciones (Segalini y col., 2009; Panciera y col., 2012).

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico de hipotiroidismo inicialmente es clínico, pero dado que los signos no son específicos y la presentación es amplia, la única base certera para el diagnóstico definitivo es la determinación en plasma de hormonas tiroideas junto con la determinación de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) (Ferguson, 1994; Kemppainen y Behrend, 2001; Hoh y Oh, 2006). Los test de laboratorio deberían utilizarse para apoyar o refutar una sospecha clínica pero no usarse de manera aislada (Mooney y Peterson, 2007). No existe una prueba de laboratorio con una sensibilidad y especificidad perfecta. La determinación de T4L (fracción metabólicamente activa) proporciona una valoración más precisa de la capacidad funcional de la tiroides (Mooney y Peterson, 2007). La concentración de TSH aporta especificidad a la medición de T4T o T4L. Es decir, si se toma como criterio diagnóstico una T4T o T4L baja y una TSH alta se consigue disminuir el número de falsos positivos, con una especificidad mayor a 95% (Melián y Pérez, 2008).

Una baja concentración sérica de T4T o T4L con un nivel de TSH elevado, en una muestra de sangre obtenida en un perro con antecedentes y signos clínicos apropiados sostienen el diagnóstico de hipotiroidismo primario (Feldman y Nelson, 2007).

En las primeras fases del hipotiroidismo puede observarse TSH elevada junto a niveles normales o hacia el límite inferior de Tiroxina (total y/o libre). Este primer estadio es considerado como hipotiroidismo subclínico. En estos pacientes los niveles normales de T4 son sostenidos por una alta secreción de TSH (Fogel y Manzuc, 2010).

Tabla 1. Valores de referencia de hormonas tiroideas, TSH, Colesterol y Triglicéridos en caninos. Fuente: Kaneko y col., 2008.

Hormona	Valores de referencia
T4L	0.7 a 2.5 ng/dL
T4T	1.5 a 3.5 µg/dL
TSH	0.1 a 0.43 ng/mL
Colesterol	125 a 310 mg/dL
Triglicéridos	40 a 150 mg/dL

La concentración de hormonas tiroideas y TSH puede verse afectada por numerosos factores (fisiológicos o patológicos). Las variaciones séricas de estas hormonas pueden responder a una enfermedad extratiroidea (insuficiencia renal, diabetes mellitus, hepatitis, hiperadrenocorticismos, hipoadrenocorticismos, trastornos neoplásicos, piodermia, etc.), o ser secundario a la administración de algunos fármacos (glucocorticoides, anticonvulsivantes, fármacos antiinflamatorios no esteroideos y sulfonamidas potenciadas). Existen además factores fisiológicos que pueden provocar variaciones en la concentración de estas hormonas: la hora del día, talla del perro, edad y momento del ciclo reproductivo en las hembras como se mencionó anteriormente. La tiroiditis linfocítica autoinmune puede también interferir con las mediciones de T4T debido a la presencia de anticuerpos de hormona tiroidea (T4AAs) (Mooney y Peterson, 2007).

Las técnicas de laboratorio más comúnmente empleadas para valorar las hormonas tiroideas son radioinmunoanálisis (RIA), enzimoimmunoanálisis y quimioluminiscencia. En las últimas décadas la metodología del ensayo inmunoquimioluminiscente ha reemplazado progresivamente el método de radioinmunoensayo competitivo (RIA) utilizado para medir la mayoría de las hormonas en fluidos biológicos. La ventaja principal de este método, comparado con el RIA, es su mayor sensibilidad (5 a 10 veces

más sensible), menores tiempos de incubación, mayor rango útil de trabajo y mayor vida útil de los reactivos (Spencer, 2002).

A nivel de laboratorio existen ciertas alteraciones bioquímicas y hematológicas asociadas con el hipotiroidismo, como la hiperlipidemia y la anemia. Cuando están presentes apoyan el presunto diagnóstico de hipotiroidismo (Mooney y Peterson, 2007). Una leve anemia normocítica y normocrómica afecta aproximadamente el 40-50% de los perros hipotiroideos. Esta es una consecuencia de la reducción de la actividad metabólica periférica y de una reducción de la demanda de oxígeno del tejido (Mooney y Peterson, 2007).

El hipotiroidismo es la causa más común de hipercolesterolemia en el perro. La hiperlipidemia secundaria al hipotiroidismo puede ser atribuida a una disminución tanto en la síntesis como en la degradación de lípidos, siendo esta última la más afectada. La disminución en la actividad de la lipoproteína lipasa contribuye a la disminución en la eliminación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. Además, la deficiencia de hormonas tiroideas reduce la excreción biliar de colesterol. El aumento resultante en la concentración intrahepática de colesterol regula en menos el receptor hepático de LDL, lo cual aumenta la concentración de partículas circulantes de LDL y HDL ricas en colesterol (Nelson y Couto, 2010).

La hipercolesterolemia se registra en más del 80% de los perros afectados, no siendo extraño encontrar concentraciones mayores a 700 mg/dL. Si bien la hipercolesterolemia no es específica del hipotiroidismo, un aumento inusualmente exagerado debería provocar su consideración. La hipertrigliceridemia también se presenta en una proporción similar de los casos. Sin embargo debemos mencionar que la hiperlipidemia es una característica común a otros trastornos endócrinos, especialmente de la diabetes mellitus y del hiperadrenocorticismismo (Mooney y Peterson, 2007).

LA RAZA BULLDOG

En nuestro país, en estos últimos años, la raza bulldog (inglés y francés) ha despertado gran interés, aumentando notoriamente el número de ejemplares. El valor económico y las dificultades que la crianza de esta raza ofrece, han hecho que el clínico veterinario se interese en ella.

El bulldog inglés es una de las razas con mayor propensión genética a diversas enfermedades y está catalogado como perro de "Alto Perfil" (High Profile) en problemas de salud, conforme a la declaración del Kennel Club del Reino Unido (KCUK), resultado

de la crianza endogámica, la conformación anatómica exagerada de la raza y el incipiente control genético de enfermedades (Enfermedades del Bulldog Inglés, 2014). El bulldog inglés tiene una diversidad genética muy baja resultante de una pequeña población fundadora y cuellos de botella artificiales (Pedersen y col., 2016). Tras siglos de cría selectiva para achatar su nariz, reducir su estatura y engordar su musculatura, la genética del bulldog inglés se ha vuelto tan endogámica que apenas deja espacio para la diversidad, o realizar cambios genéticos adicionales que mejoren los problemas de salud de la raza (Pedersen y col., 2016). La endogamia potencia la homocigosis, de modo que quedan expuestos los genes deletéreos recesivos y estos constituyen la forma en que se heredan la mayoría de las enfermedades genéticas reconocidas en el perro (Gough y Thomas, 2008). La predisposición racial se define como el riesgo elevado de una raza de sufrir un trastorno; el hipotiroidismo es considerado de elevado riesgo en el bulldog inglés (Gough y Thomas, 2008) y se encuentra dentro de los desórdenes que tienen una incidencia creciente en esta raza según la base de datos de desórdenes caninos hereditarios de la Universidad de la Isla del Príncipe Eduardo, en Canadá (English Bulldog, 2011). En este mismo sentido, Major y col. (2015) reportaron un caso de hipotiroidismo congénito con bocio en una hembra bulldog francés de 9 meses de edad, causado por una dishormonogénesis de etiología genética (mutación en el gen de la tiroperoxidasa) que anulaba la expresión y función de esta enzima.

HIPOTESIS

Los perros de las razas Bulldog inglés y francés presentan diferencias en las concentraciones de hormonas tiroideas con respecto a otras razas, y, debido a la asociación existente entre ambos, también en el perfil lipídico (colesterol y triglicéridos).

OBJETIVOS

General:

Contribuir al conocimiento del estatus endocrino tiroideo en caninos de la raza Bulldog (inglés y francés) y al desarrollo de herramientas diagnósticas de hipotiroidismo canino.

Específicos:

- Determinar los niveles sanguíneos de hormonas tiroideas (T4T y T4L) y TSH en perros sanos de raza Bulldog (inglés y francés), machos y hembras y compararlos con los valores de referencia para la especie canina.
- Evaluar las concentraciones séricas de colesterol y triglicéridos en machos y hembras de la raza Bulldog (inglés y francés).
- Analizar si existe efecto de la raza y el sexo sobre las hormonas tiroideas y los metabolitos que se utilizan de rutina para el diagnóstico de hipotiroidismo canino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se incluyeron en este estudio un total de 49 perros adultos, 24 de la raza Bulldog inglés, de ambos sexos (8 machos y 16 hembras) y 25 de la raza Bulldog francés, de ambos sexos (7 machos y 18 hembras), clínicamente sanos, provenientes tanto de criaderos como de clínicas veterinarias particulares. Se utilizaron dos grupos control; uno formado por perros de la raza Ovejero alemán, de ambos sexos (7 machos y 8 hembras), y otro formado por perros cruzas, de ambos sexos (5 machos y 9 hembras). Todos los animales se encontraban al día con la desparasitación y vacunación correspondiente. Fueron agrupados de acuerdo a la raza y al sexo.

Determinaciones de hormonas y de metabolitos

Se extrajeron muestras de sangre por venopunción de la vena cefálica en tubos sin anticoagulante que fueron debidamente rotulados y se centrifugaron a 3000 rpm por 15 minutos para la obtención del suero. Las muestras se conservaron a -20° C hasta ser analizadas en el Laboratorio.

Las determinaciones de hormonas y metabolitos se realizaron en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal, Facultad de Veterinaria, UdelaR.

Se determinaron las concentraciones de T4T, T4L y TSH utilizando kits comerciales (Diagnostic Product Corporation, Los Ángeles CA, USA) por inmunoanálisis quimioluminiscente enzimático competitivo en fase sólida (Immulite 1000).

Las concentraciones de colesterol y triglicéridos se analizaron por espectrofotometría (Vitalab Selectra) utilizando kits comerciales (Wiener Lab, Rosario, Argentina).

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos obtenidos se utilizó el paquete estadístico SAS (Sistema de Análisis Estadístico, SAS Institute, Cary, NC, EE.UU). Se realizó un análisis univariado de los datos en todas las variables para identificar valores atípicos y para verificar la normalidad de los residuales. Las concentraciones de las hormonas (T4T, T4L, TSH) y metabolitos (colesterol, triglicéridos) determinadas en este ensayo se analizaron por el procedimiento mixto (Proc Mixed, Statistical Análisis System, SAS) incluyendo en el modelo como efectos fijos la raza, el sexo y sus interacciones, utilizando la edad como covariable. El nivel de significación fue $P < 0.05$ y los valores de P comprendidos entre 0.05 y 0.10 se consideraron como tendencia.

RESULTADOS

Los efectos de la raza y el sexo sobre las concentraciones de las diferentes hormonas y metabolitos determinados en el presente estudio se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Valores de significancia (P) para los efectos fijos raza y sexo sobre las diferentes variables estudiadas.

VARIABLES	RAZA	SEXO
T4T	0.0082	NS
T4L	NS	0.016
TSH	0.041	NS
COL	NS	NS
TG	NS	NS

COL= colesterol; TG= triglicéridos. NS= no significativo

Variables Endócrinas

T4 Total (T4T)

Los valores de T4T se encontraron dentro de los rangos de referencia internacionales para la especie canina.

La concentración sérica de T4T estuvo afectada por la raza ($P=0.0082$), presentando la raza Bulldog inglés niveles más altos de esta hormona respecto a la raza Ovejero alemán (2.54 ± 0.13 vs 1.96 ± 0.17 , $P=0.009$), y cruza (2.54 ± 0.13 vs 1.83 ± 0.18 , $P=0.003$). La raza Bulldog francés también presentó niveles superiores al grupo control formado por caninos cruza (2.34 ± 0.16 vs 1.83 ± 0.18 , $P=0.043$). Las razas Bulldog inglés y francés no presentaron diferencias en la concentración de T4T sérica entre ellas (Figura 4).

No hubo efecto del sexo ni de la interacción raza*sexo para la concentración sérica de T4T (Figura 5).

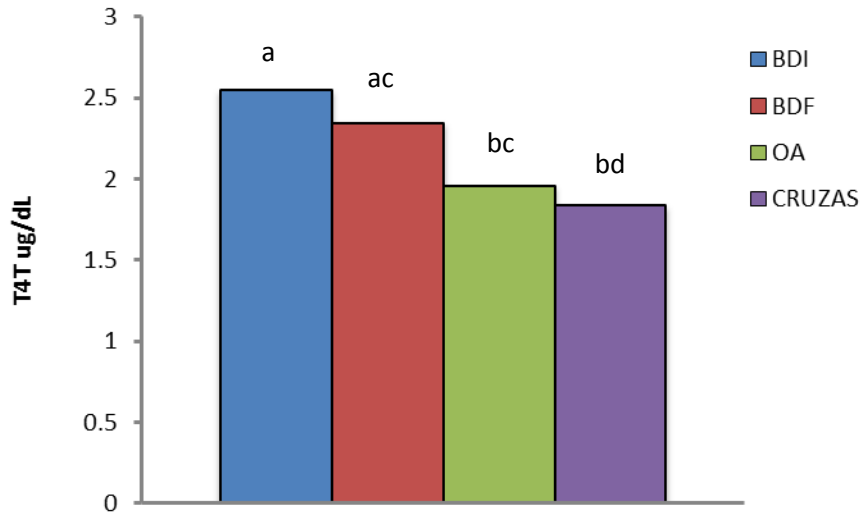


Figura 4. Concentración sérica de T4T para la raza Bulldog inglés (BDI), Bulldog francés (BDF), Ovejero alemán (OA) y cruzas. Las diferentes letras indican diferencias en el gráfico, a,b,c,d: $P < 0.05$ (cuadrado de las medias \pm error estándar).

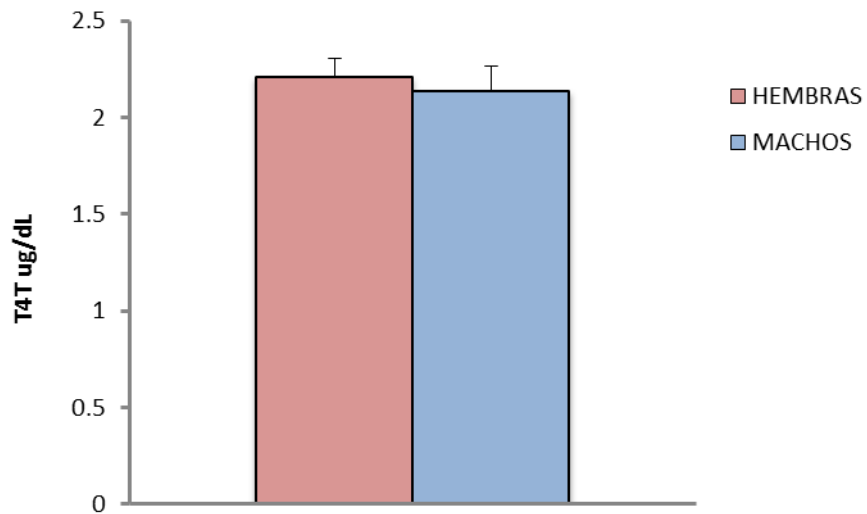


Figura 5. Concentración sérica de T4T para los grupos hembras y machos.

T4 Libre (T4L)

Los valores de T4L se encontraron dentro de los rangos de referencia internacionales para la especie canina.

Las concentraciones séricas de T4L no se vieron afectadas por la raza (Figura 6).

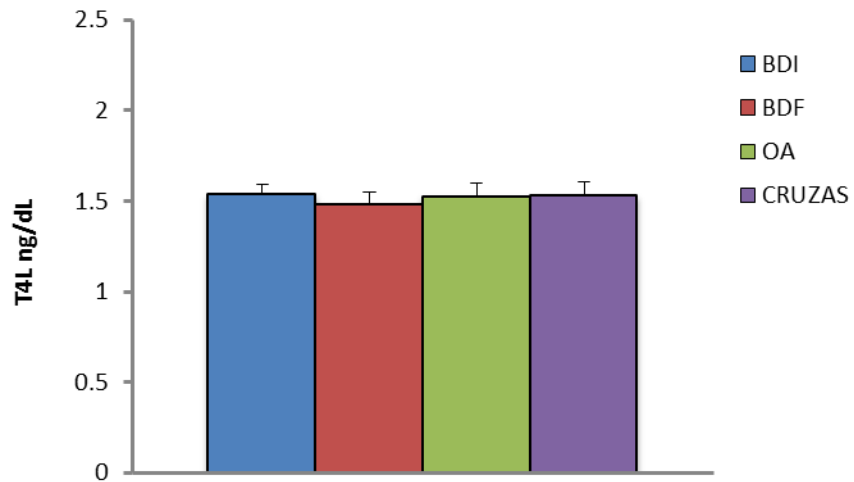


Figura 6. Concentraciones séricas de T4L para la raza Bulldog inglés (BDI), Bulldog francés (BDF), Ovejero alemán (OA) y cruzas.

La concentración sérica de T4L estuvo afectada por el sexo ($P=0.016$), presentando las hembras niveles mayores de esta hormona con respecto a los machos (1.61 ± 0.04 vs 1.43 ± 0.06 , $P=0.016$). No se observó un efecto significativo de la interacción raza*sexo (Figura 7).

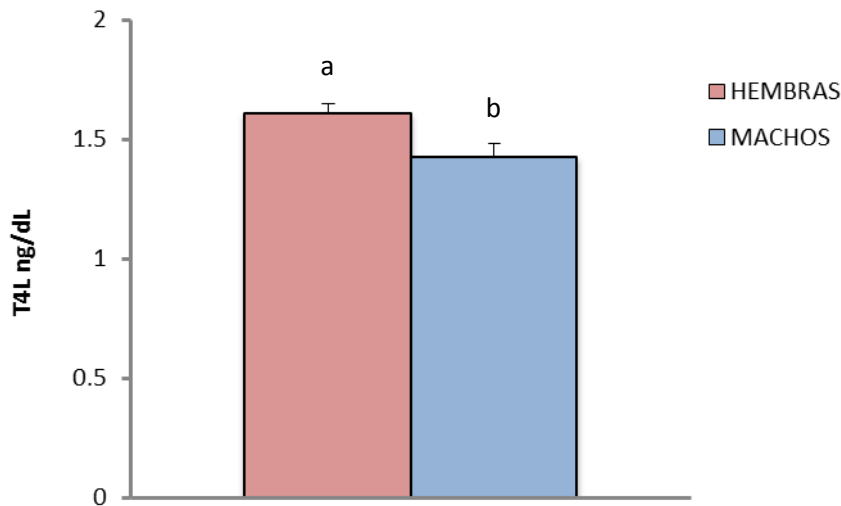


Figura 7. Concentraciones séricas de T4L para los grupos hembras y machos. Las diferentes letras indican diferencias en el gráfico, a,b: $P < 0.05$ (cuadrado de las medias \pm error estándar).

Tirotropina (TSH)

Los valores de TSH se encontraron dentro de los rangos de referencia internacionales para la especie canina.

Las concentraciones séricas de TSH se vieron afectadas por la raza ($P=0.041$).

La raza Bulldog inglés y francés presentaron menores niveles de esta hormona respecto al grupo control formado por caninos cruzas ($0,11\pm 0,02$ vs $0,19\pm 0,18$, $P=0,02$ y $0,09\pm 0,02$ vs $0,19\pm 0,19$, $P=0,0085$, respectivamente).

Las razas Bulldog inglés y francés no presentaron diferencias en la concentración de TSH sérica entre ellas (Figura 8).

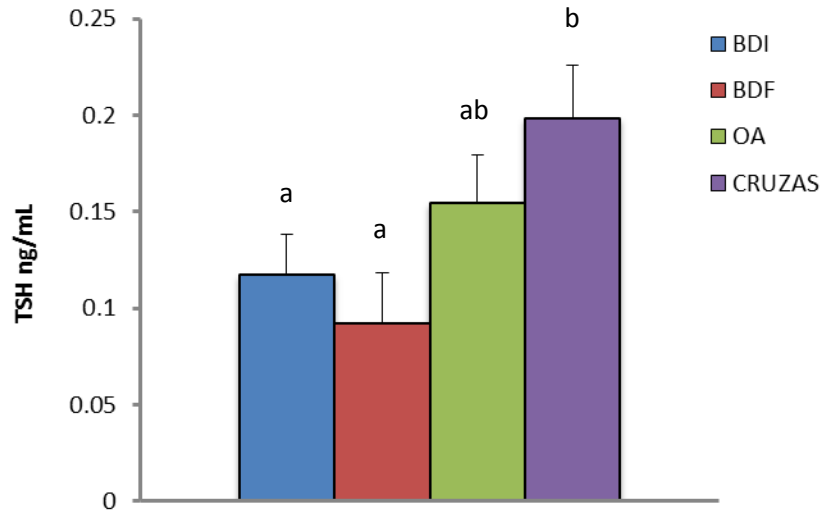


Figura 8. Concentraciones séricas de TSH para la raza Bulldog inglés (BDI), Bulldog francés (BDF), Ovejero alemán (OA) y cruzas. Las diferentes letras indican diferencias en el gráfico, a,b: $P < 0.05$ (cuadrado de las medias \pm error estándar).

Las concentraciones séricas de TSH no se vieron afectadas por el sexo ni por la interacción raza*sexo (Figura 9).

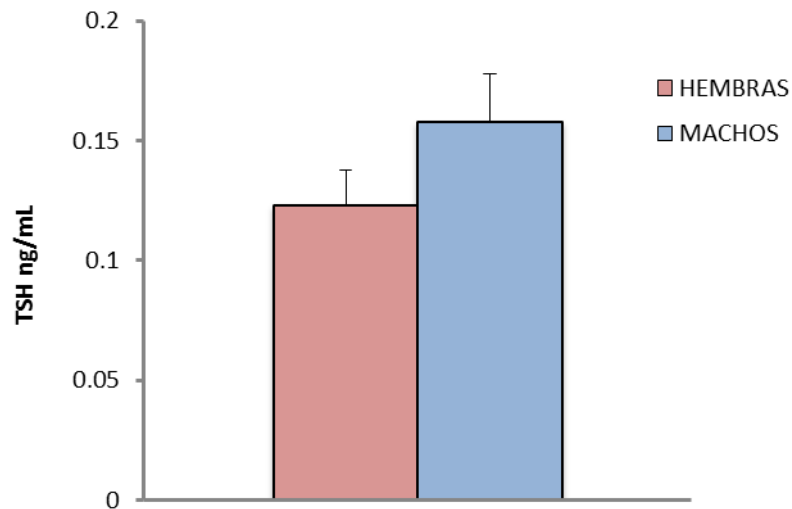


Figura 9. Concentraciones séricas de TSH para los grupos hembras y machos.

Variables Metabólicas

Colesterol y Triglicéridos

Los valores de colesterol y triglicéridos se encontraron dentro de los rangos de referencia internacionales para la especie canina.

Las concentraciones séricas de colesterol y triglicéridos no se vieron afectadas por la raza (Figura 10 A y B) y el sexo (Figura 10 C y D). No se encontró efecto de la interacción raza*sexo.

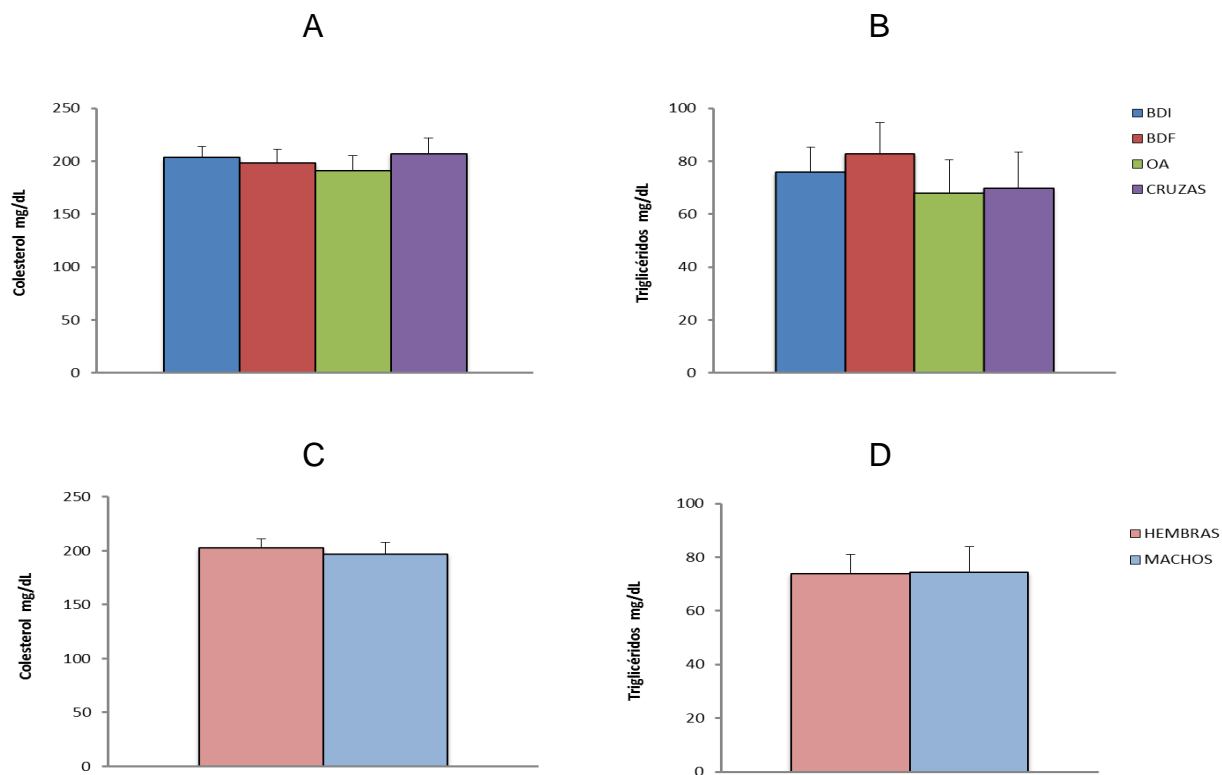


Figura 10. Concentraciones séricas de Colesterol (A) y Triglicéridos (B) para la raza Bulldog inglés (BDI), Bulldog francés (BDF), Ovejero alemán (OA) y cruza. Concentraciones séricas de Colesterol (C) y Triglicéridos (D) para los grupos hembras y machos.

DISCUSIÓN

Este estudio es el primer trabajo basado en muestras de perros de la raza Bulldog inglés y francés de Uruguay en el que se determina y evalúa en forma conjunta la concentración de hormonas tiroideas, TSH, colesterol y triglicéridos. Las concentraciones séricas obtenidas en esta tesis para las variables endócrinas (T4T, T4L y TSH) y metabólicas estudiadas (colesterol y triglicéridos), se encontraron dentro de los rangos fisiológicos normales y coinciden con las reportadas en la bibliografía internacional para perros sanos (Kaneko y col., 2008).

Efecto de la raza sobre las variables endócrinas y metabólicas

En el presente estudio se encontró un efecto de la raza sobre la concentración sérica de T4T y TSH, observándose niveles más altos de T4T y más bajos de TSH en las razas Bulldog inglés y francés con respecto a los grupos control; pero siempre dentro de los rangos de referencia para estas hormonas. No encontramos estudios similares en la raza Bulldog con los cuales comparar nuestros resultados, no obstante existen reportes que mencionan la existencia del efecto de la raza sobre la concentración de estas hormonas. En este sentido los trabajos encontrados reportan, que ciertas razas (Lebreles, Greyhound, Whippet, Sloughi, Basenji, Scottish Deerhound, entre otras) presentan una menor concentración de T4T en relación a los valores de referencia (Pancieria, 1997; Gaughan y Bruyette, 2001; Van Geffen y col., 2006; Shiel y col., 2007; Panakova y col., 2008; Seavers y col., 2008; Sheerer y col., 2013; Hegstad-Davies y col., 2015). La relación encontrada entre la T4T y la TSH en la raza Bulldog es consistente con el mecanismo de retroalimentación negativa existente entre ambas hormonas. Estos resultados concuerdan con un trabajo realizado en la raza Sloughi, la cual presentó niveles más bajos de T4T y más altos de TSH con respecto a otras razas (Panakova y col., 2008).

Por otro lado, no encontramos un efecto de la raza sobre la concentración sérica de T4L. Resultados similares se encontraron en la raza Whippet, donde la concentración de T4L tampoco difirió del grupo control (Van Geffen y col., 2006). Cabe destacar que la T4L es la fracción hormonal que se encuentra disponible para su uso en los diferentes tejidos, por ende los mecanismos homeostáticos que regulan el eje tiroideo pretenden mantener concentraciones adecuadas de esta hormona, ya sea mediante un descenso abrupto en la tasa metabólica o estimulando la producción de hormonas tiroideas al liberarse TSH. Esto podría explicar porque los valores de T4L no se ven influenciados por diferentes situaciones fisiológicas en los perros y se mantienen dentro de los rangos

normales a pesar de las fluctuaciones de la T4T (Klein, 2014). En contraposición a nuestros resultados, otros estudios encontraron un efecto de la raza sobre la concentración de T4L al realizar mediciones en la raza Greyhound y en otras 7 razas diferentes (Gaughan y Bruyette, 2001; Shiel y col., 2007; Hegstad-Davies y col., 2015). En los perros, la T4L circula en plasma en muy baja cantidad, aproximadamente 0,1% (Scavelli y Peterson, 1992; Kaptein y col., 1994), por lo que las diferencias encontradas entre los distintos trabajos pueden depender de la sensibilidad de la técnica empleada para la determinación de esta hormona.

Las concentraciones de los metabolitos (colesterol y triglicéridos) no se vieron afectadas por la raza en nuestro trabajo, concordando con lo reportado por otros autores (Barrie y col., 1993; Downs y col., 1993; Seavers y col., 2008). Sin embargo, Pasquini y col. (2008) observaron un efecto de la raza sobre la concentración de colesterol y triglicéridos, siendo el Rottweiler y el perro de montaña de los Pirineos las razas con valores más altos para estos metabolitos. Así mismo, Sato y col. (2000), en la raza Shetland Sheepdog, encontraron niveles de colesterol más altos que en el grupo control, demostrando una mayor incidencia de hipercolesterolemia en esta raza.

Efecto del sexo sobre las variables endócrinas y metabólicas

En este trabajo de tesis la concentración de T4L se vio afectada por el género, siendo mayor en hembras que en machos; no se encontró un efecto sobre la concentración de T4T y TSH. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Pessina y col. (2010), si bien el número de animales utilizados en ese estudio fue escaso (n=7). Reimers y col. (1990) tampoco encontraron efecto del sexo sobre la concentración de T4T a pesar de utilizar un mayor número de animales (n=1047). En contraste con estos resultados, Pessina y col. (2014) reportaron un efecto del sexo sobre la concentración de T4T y TSH en perros de la raza Ovejero alemán (n=57). Ramírez Benavides y Osorio (2009), determinaron la concentración de T4L mediante el método de quimioluminiscencia en 180 perros, no encontrando efecto del sexo en la concentración de dicha hormona. A su vez, Hegstad-Davies y col. (2015) reportaron un efecto del sexo sobre la concentración T4T y T4L (mayor en hembras), pero no así sobre la TSH. Shiel y col. (2010) reportaron resultados similares en la raza Saluki, donde las hembras también presentaron concentraciones de T4L y T4T más altas en comparación con los machos. Debemos señalar que la mayoría de los trabajos previos, al igual que nuestro estudio, no tuvieron en cuenta factores fisiológicos, como la etapa del ciclo estral en la hembra, lo cual se ha demostrado que afecta las concentraciones periféricas de hormonas tiroideas, dando como resultado que tales concentraciones sean mayores en hembras en diestro y preñadas en comparación con hembras en anestro, proestro, lactación o machos

(Reimers y col., 1984). Sin embargo, Hegstad-Davies y col. (2015) si bien reportan mayores concentraciones de T4T y T4L en hembras que en machos, al eliminar del análisis las hembras en diestro, la concentración de estas hormonas se mantuvo más altas en las hembras. En este sentido existen otros factores a tener en cuenta; los estrógenos aumentan la síntesis hepática de TBG (globulina fijadora de tiroxina), lo que lleva a un aumento de la concentración de T4T (Klein, 2014). Otro mecanismo que podría interferir es la correlación positiva reportada en ovinos entre los estrógenos y la Insulina plasmática (Sosa y col., 2006). Estos resultados concuerdan con los encontrados por Pessina y col. (2010), en caninos, donde las hembras presentaron mayores niveles de insulina post ingesta que los machos y a su vez hubo una correlación positiva entre la T4T y la insulina.

En nuestro estudio, las concentraciones de colesterol y triglicéridos no estuvieron influenciadas por el sexo. En este mismo sentido, otros autores tampoco observaron diferencias atribuibles al sexo (Coppo y col., 2003; Osorio, 2006; 2008). En contraposición a estos resultados, hay trabajos donde reportan diferencias en relación al género, siendo las concentraciones de estos metabolitos mayores en hembras que en machos (Kaspar y Norris, 1977; Pasquini y col., 2008; Pessina y col., 2009; 2010; 2014). Estos resultados podrían deberse a los mayores niveles de insulina encontrados en las hembras, ya que esta hormona interviene en la regulación de la biosíntesis del colesterol (Nelson y Cox, 2009). Las variaciones encontradas en estos resultados pueden deberse a los diferentes métodos de análisis utilizados y a ciertos factores no contemplados en los estudios como la edad y la dieta que influyen directamente sobre el metabolismo lipídico (Osorio, 2008).

CONCLUSIONES

En las razas Bulldog inglés y francés las concentraciones séricas de las hormonas T4T, T4L y TSH, así como la de metabolitos (colesterol y triglicéridos), se encontraron dentro de los rangos fisiológicos normales.

En este estudio se observó un efecto de la raza sobre la concentración sérica de T4T y TSH, presentando la raza Bulldog inglés y francés mayores niveles de T4T y menores niveles de TSH con respecto al grupo control.

El sexo afectó la concentración de T4L siendo mayor en las hembras que en los machos.

Estos hallazgos deberían considerarse al momento de diagnosticar hipotiroidismo en esta raza.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- Arce, VM; Catalina, PF; Mallo, F (2006) Endocrinología. Universidad de Santiago de Compostela, Universidad de Vigo, Servizo de Publicacións e Intercambio Científico da Universidade de Santiago de Compostela, 417p.
- 2- Barrie, J; Watson, TDG; Stear, MJ; Nash, AS (1993) Plasma cholesterol and lipoprotein concentrations in the dog: the effects of age, breed, gender and endocrine disease. *The Journal of Small Animal Practice*; 34:507–512.
- 3- Beale, KM; Bloomberg, MS; Gilder, JV; Wolfson, BB; Keisling, K (1992) Correlation of Racing and Reproductive Performance in Greyhounds with Response to Thyroid Function Testing. *Journal of the American Animal Hospital Association*; 28:263-269.
- 4- Belshaw, BF (1989) Enfermedades tiroideas. En: Ettinger, S (ed): *Tratado de Medicina Interna Veterinaria*. 2a ed. Buenos Aires, Inter-Médica, pp 1491- 149.
- 5- Castillo, VA (2010) Modulo endocrinología. Universidad de Buenos Aires. Disponible en: <http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/posgrado/especializaciones/espsaludanimal/informacion/material/250411/ENDOCRINOLOGIA%202010/Moduloendocrino.doc>. Fecha de consulta: 13/10/2016.
- 6- Coppo, NB; Coppo; JA; Lazarte, MA (2003) Intervalos de confianza para colesterol ligado a lipoproteínas de alta y baja densidad en suero de bovinos, equinos, porcinos y caninos. *Revista Veterinaria*; 14(1):3-10.
- 7- Dieguéz, C; Aguilar, E (1997) Integración neuroendócrina y regulación hormonal de la secreción adenohipofisaria. En: Pombo, M. *Tratado de Endocrinología Pediátrica*. 2a ed. Madrid, Ediciones Díaz de Santos, pp.25-58.
- 8- Dohan, O; Carrasco, N (2003) Advances in Na⁺/I⁻ symporter (NIS) research in the thyroid and beyond. *Molecular and Cellular Endocrinology*; 213(1):59-70.
- 9- Downs, LG; Bolton, CH; Crispin, SM; Wills, JM (1993) Plasma lipoprotein lipids in five different breeds of dogs. *Research in Veterinary Science*; 54:63–67.
- 10- Enfermedades del Bulldog Inglés (2014) GyO Bulldogs México. Disponible en: <http://www.gyobulldogs.com/bulldog/enfermedades.html>. Fecha de consulta: 24/10/2016.

- 11-English (British) bulldog (2011) UPEI; University of Prince Edward Island. Canine Inherited Disorders Database. Disponible en: <http://discoveryspace.upei.ca/cidd/breed/english-british-bulldog>. Fecha de consulta: 24/10/2016.
- 12-Feldman, EC; Nelson, RW (2007) Endocrinología y Reproducción canina y felina. 3ª ed. Buenos Aires, Inter-Médica, 1218 p.
- 13-Ferguson, DC (1994) Update on diagnosis of canine hypothyroidism. Veterinary Clinics of N.A: Small Animal Practice; 24(3):515-539.
- 14-Fogel, F; Manzuc, P (2010) Hipotiroidismo Canino. Virbac al día; 27. Disponible en: <http://www.webveterinaria.com/virbac/news27/hipotiroidismo.pdf>. Fecha de consulta: 02/05/2017.
- 15-Gaughan, KR; Bruyette, DS (2001) Thyroid function testing in Greyhounds. American Journal of Veterinary Research; 62(7):1130-1133.
- 16-Goodman, HM (2009) Basic Medical Endocrinology. 4a ed. San Diego, Elsevier, 309p.
- 17-Gough, A; Thomas, A. (2008) Predisposiciones raciales a enfermedades en perro y gato. 2a ed. Zaragoza, Servet Diseño y Comunicación, 279 p.
- 18-Hegstad-Davies, RL; Torres, SMF; Sharkey, LC; Gresch, SC; Muñoz-Zanzi, CA; Davies, PR. (2015) Breed-specific reference intervals for assessing thyroid function in seven dog breeds. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation; 27:716-727.
- 19-Hoh, WP; Oh, TH (2006) Circadian variations of serum thyroxine, free thyroxine and 3, 5, 3'triiodothyronine concentrations in healthy dogs. Journal of Veterinary Science; 7(1):25-29.
- 20-Johnson, CA; Grace, JA; Probst, MR (1987) The Effect of Maternal Illness on Perinatal Health. Veterinary Clinics of N.A: Small Animal Practice; 17:555-566.
- 21-Johnson, CA (1994) Reproductive Manifestations of Thyroid Disease. Veterinary Clinics of N.A: Small Animal Practice; 24:509-514.
- 22-Johnson, CA (2002) Thyroid Issues in Reproduction. Clinical Techniques in Small Animal Practice; 17:129-132.
- 23-Kaneko, JJ; Harvey, JW; Bruss, ML (2008) Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6a ed. San Diego, Elsevier, pp.629-631.

- 24-Kaptein, EM; Hays, MT; Ferguson, DC (1994) Thyroid hormone metabolism. A comparative evaluation. *Veterinary Clinics of N.A: Small Animal Practice*; 24:431-466.
- 25-Kaspar, LV; Norris, WP (1977) Serum chemistry values of normal dogs (Beagles): association with age, sex, and family line. *Laboratory Animal Science*; 27(6):980-985.
- 26-Kemppainen, RJ; Behrend, EN (2001) Diagnosis of canine hypothyroidism. *Veterinary Clinics of N.A: Small Animal Practice*; 31(5):951-962.
- 27-Klein, BG (2014) *Cunningham Fisiología Veterinaria*. 5ª ed. Barcelona, Elsevier, 624 p.
- 28-Larsen, PR; Berry, MJ (1994) Type I iodothyronine deiodinase: unexpected complexities in a simple deiodination reaction. *Thyroid*. Fall; 4(3):357-62.
- 29-Mansberger, AR. Jr; Wei, JP (1993) Surgical embryology and anatomy of the thyroid and parathyroid glands. *Surgical Clinics of N.A*; 73:727-746.
- 30-Major, S; Pettigrew, RW; Fyfe, JC (2015) Molecular Genetic Characterization of Thyroid Dysmorphogenesis in a French Bulldog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*; 29:1534-1540.
- 31-Mayayo, E; Santisteban, P; Vincens-Calvet, E (2000) Patología Tiroidea fetal y neonatal. En: Argente, J; Carrascosa, A; García, R; Rodríguez, F. *Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia*. 2a ed. Barcelona, Doyma, pp.647-700.
- 32-Melián, C; Pérez, MD (2008) *Manual de endocrinología de pequeños animales*. Barcelona, MultiméDica Ediciones Veterinarias, 405 p.
- 33-Mooney, CT; Peterson, ME (2007) *Manual de Endocrinología en Pequeños Animales*. 3a ed. Barcelona, Ediciones S, 350 p.
- 34-Nelson, DL; Cox, MM (2009) *Lehninger Principios de Bioquímica*. Barcelona, Omega, 1157 p.
- 35-Nelson, R; Couto, CG (2010) *Medicina interna en pequeños animales*. 4a ed. Barcelona, Elsevier, 1467 p.
- 36-Nussey, SS; Whitehead, SA (2001) *Endocrinology: An integrated approach*. Oxford, BIOS Scientific, pp. 71-79.

- 37-Osorio, JH (2006) Total cholesterol and HDL-cholesterol in aging dogs. *Biosalud*; 5:19-24.
- 38-Osorio, JH (2008) The variability in the canine lipid profile values and its possible relationship with the measurement method used. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e zootecnia*; 3(1)70-77.
- 39-Osorio, JH; Salazar, LC (2011) Actualización en el Funcionamiento de la Glándula Tiroides en Caninos. Primera parte: funcionamiento normal. *Biosalud*; 10:99-112. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v10n1/v10n1a09.pdf>. Fecha de consulta: 01/07/2016.
- 40-Panakova, L; Koch, H; Kolb, S; Mueller, RS (2008) Thyroid Testing in Sloughis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*; 22:1144–1148.
- 41-Pancieri, DL (1997) Thyroid-function testing: Is the future here?. *Veterinary Medicine*; 92: 50-57.
- 42-Pancieri, DL; Purswell, BJ; Kolster, KA (2007) Effect of short-term hypothyroidism on reproduction in the bitch. *Theriogenology*; 68:316-321.
- 43-Pancieri, DL; Purswell, BJ; Kolster, KA; Were, SR; Trout, SW (2012) Reproductive Effects of Prolonged Experimentally Induced Hypothyroidism in Bitches. *Journal of Veterinary Internal Medicine*; 26:326-333.
- 44-Pasquini, A; Luchetti, E; Cardini, G (2008) Plasma lipoprotein concentrations in the dog: the effects of gender, age, breed and diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*; 92:718-722.
- 45-Pedersen, NC; Pooch, AS; Liu, H (2016) A genetic assessment of the English bulldog. *Canine Genetics and Epidemiology*. 3:6.
- 46-Pessina, P; Fernández-Foren, A; Cueto, E; Delucchi, L; Castillo, V; Meikle, A (2009) Cortisol secretion after adrenocorticotrophin (ACTH) and Dexamethasone tests in healthy female and male dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*; 51(1): 33.
- 47-Pessina, P; Sosa, C; Araujo, M; Orellana, B; Brambillasca, S; Cajarville, C; Meikle, A (2010) Perfiles metabólicos y endócrinos en perros sanos: influencia de la ingesta y el sexo. *Veterinaria (Montevideo)*; 46:33-38.
- 48-Pessina, P; Barcia, M; Jericó, M; Castillo, V (2014) Variaciones fisiológicas, en el Ovejero Alemán, de los parámetros metabólicos y endocrinos más frecuentemente utilizados en el diagnóstico de hipotiroidismo canino. *Veterinaria (Montevideo)*; 50(195):4-16.

- 49-Peter, AT; Gaines, JD; Smith, CL (1989) Association of weak estrual signs and irregular estrous cycles with hypothyroidism in a bitch. *Canadian Veterinary Journal*; 30:957-958.
- 50-Peterson, M; Ferguson, D (1992) Tiropatías. En: Ettinger, SJ; Ackerman, N. *Tratado de Medicina Interna Veterinaria*. 3a ed. Buenos Aires, Inter-vet, pp.1716-1725.
- 51-Pocock, G; Richards, CD (2005) Regulación hormonal del organismo. En: *Fisiología Humana: La base de la Medicina*. Madrid, Elsevier, pp 229-230.
- 52-Ramírez Benavides, GF; Osorio, JH (2009) Niveles séricos de tetrayodotironina libre (T4L), mediante el método de electroquimioluminiscencia en caninos. *Revista Científica*; 19(3):238-241.
- 53-Reimers, TJ; Mummery, LK; Mc Cann, JP; Cowan, RG; Concannon, PW (1984) Effects of reproductive state on concentrations of thyroxine, 3, 5, 3'-triiodothyronine and cortisol in serum of dogs. *Biology of reproduction*; 31(1):148-154.
- 54-Reimers, TJ; Lawler, DF; Sutaria, PM; Correa, MT; Erb, HN (1990) Effects of age, sex and body size on serum concentrations of thyroid and adrenocortical hormones in dogs. *American Journal of Veterinary Research*; 51(3):454-457.
- 55-Rijnberk, A; Kooistra, HS (2010) *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats*. 2a ed. Hannover, Schlütersche, 338 p.
- 56-Roche, J; Michel, R (1955) Nature, Biosynthesis and Metabolism of Thyroid Hormones. *Physiological Reviews*; 35:583-610.
- 57-Sato, K; Agoh, H; Kaneshige, T; Hikasa, Y; Kagota, K (2000) Hypercholesterolemia in Shetland sheepdogs. *Journal of Veterinary Medical Science*; 62:1297–1301.
- 58-Scavelli, TD; Peterson, ME (1992) The thyroid. En: Slatter D (ed): *Textbook of Small Animal Surgery*. 2a ed. Saunders, Philadelphia, 1514 p.
- 59-Seavers, A; Snow, DH; Mason, KV; Malik, R (2008) Evaluation of the thyroid status of Basenji dogs in Australia. *Australian Veterinary Journal*; 86(11):429-434.
- 60-Segalini, V; Hericher, T; Grellet, A; Rosenberg, D; Garnier, F; Fontbonne, A (2009) Thyroid Function and Infertility in Dog: A Survey in Five Breeds. *Reproduction in Domestic Animals*; 44:211-213.
- 61-Sheerer, KN; Couto, CG; Marin, LM; Zaldívar-Lopez, S; Iazbik, MC; Dillberger, JE; Frye, M; DeNicola, DB (2013) Haematological and biochemical values in North American Scottish deerhounds. *Journal of Small Animal Practice*; 54:354–360.

- 62-Shiel, RE; Brennan, SF; Omodo-Eluk, AJ; Mooney, CT (2007) Thyroid hormone concentrations in young, healthy, pretraining greyhounds. *Veterinary Record*; 161:616-619.
- 63-Shiel, RE; Sist, MD; Nachreiner, RF; Ehrlich, CP; Mooney, CT (2010) Assessment of criteria used by veterinary practitioners to diagnose hypothyroidism in sighthounds and investigation of serum thyroid hormone concentrations in healthy Salukis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 236(6):302-308.
- 64-Sisson, S; Grossman, JD; Getty, R (1982) *Anatomía de los animales domésticos*. 5a ed. Barcelona, Salvat Editores, 2 V, 2302 p.
- 65-Sosa, C; Abecia, JA; Forcada, F; Viñoles, C; Tasende, C; Valares, JA; Palacín, I; Martin, GB; Meikle, A (2006) Effect of undernutrition on uterine progesterone and oestrogen receptors and on endocrine profiles during the ovine oestrous cycle. *Reproduction, Fertility and Development*; 18(4): 447-458.
- 66-Spencer, C (2002) Evaluación de la medición de tirotrófina (TSH) y tiroglobulina (Tg). *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. Disponible en: <http://www.faba.org.ar/fabainforma/360/acta01.html>. Fecha de consulta: 18/04/2017.
- 67-Van Geffen, C; Bavegems, V; Duchateau, L; De Roover, K; Daminet, S (2006) Serum thyroid hormone concentrations and thyroglobulin autoantibodies in trained and non-trained healthy whippets. *The Veterinary Journal*; 172:135–140.