

Evaluación de la ecografía transrectal para la detección y medición de cuerpos lúteos en ovejas de pelo

I. Contreras-Solís¹, T. Díaz^a, G. López^a, A. Caigua^a, H. García^a,
A. Salvador^a y A. González-Bulnes².

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, Maracay 2101,
Estado Aragua, Venezuela. POBox 4563.

²Departamento de Reproducción Animal, SGIT-INIA s/n, Madrid 28040, España.

Recibido Octubre 1, 2006. Aceptado Enero 21, 2007.

Accuracy of transrectal ultrasonography for evaluation of corpora lutea in hair sheep

ABSTRACT. Current study assessed the reliability of transrectal ultrasonography (US; Aloka SSD 500) for assessment of presence and size of corpus luteum (CL), evaluated by non-skilled operator in ovaries (n = 58) from 29 hair sheep and compared with subsequent macroscopic (or postmortem; PM) evaluation. The sensitivity, specificity and positive and negative predictive value of the US technique to detect presence of luteal tissue in an ovary were 83.3, 97.1, 95.2 and 89.2%, respectively; and to determine the number of CL in ovaries (n = 21) with single ovulation were 85.7, 97.1, 94.7 and 89.2%, respectively. Sensitivity, dropped to 33.3%, in ovaries (n = 3) bearing more than one CL. There were not significant differences between mean diameters of CL, measured by US and PM. The number of CL with differences between US and PM measures, the range of error, varying between 0-20%, >20-30% and >30%, were 14 (77%), 2 (6%) and 4 (17%), respectively. These results indicate that US technique is an effective tool for determining both presence and size of luteal tissue in hair sheep with unknown stage of the reproductive cycle.

Keywords: transrectal ultrasonography, corpus luteum, measurement, hair-sheep

RESUMEN. El objetivo del presente estudio fue evaluar el uso de la técnica ecográfica transrectal (US), para la detección y medición de los cuerpos lúteos (CLs), en ovejas de pelo. Para ello, se estudiaron 58 ovarios (n = 29 ovejas), usando un ecógrafo (Aloka SSD 500) provisto de un transductor transrectal de 7.5 MHz. Seguidamente, los animales fueron sacrificados y los ovarios recolectados y fijados, para posteriormente determinar la presencia y el diámetro de los CL (hallazgos postmortem; PM). La detección ecográfica del tejido luteal en cada ovario, tuvo una sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos, de: 83.3, 97.1, 95.2 y 89.2%, respectivamente. Asimismo, la determinación ecográfica de aquellos ovarios que presentaron una ovulación (n = 21), tuvo una sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos, de: 85.7, 97.1, 94.7 y 89.2%, respectivamente. Sin embargo, la sensibilidad de la US descendió a un 33.3% en aquellos ovarios (n = 3) portadores de más de un CL. No hubo diferencias entre los diámetros de los CL obtenidos tanto por US como por los hallazgos PM (9.5 ± 0.4 vs 8.8 ± 0.4 mm, respectivamente). El número de CL, con diferencias de diámetros, determinados por ambos métodos, y que presentaron los rangos de error entre 0-20%, >20-30% y >30%, fueron de 14 (77%), 2 (6%) y 4 (17%), respectivamente. Estos resultados indican que la US es una herramienta efectiva para la determinación de la presencia y diámetros del tejido luteal en ovejas tropicales sin conocimiento de las fases del ciclo estral.

Palabras clave: ecografía transrectal, cuerpos lúteos, medición, ovejas de pelo.

¹Autor para la correspondencia, e-mail: contreri@ucv.ve; Tel-Fax: +58 243 246 4266.

Introducción

La ecografía transrectal (US) se ha convertido en una herramienta importante para el conocimiento de las estructuras ováricas, tales como folículos y cuerpos lúteos (CLs), en las diferentes especies de hembras domésticas (Griffin and Ginther, 1992; Duggavathi *et al.*, 2003). Asimismo, en comparación con otras técnicas como la laparotomía, la US permite la visualización repetida y en tiempo real, de las estructuras corporales internas, minimizando de esta forma el manejo y el estrés de los animales. Esto último favorece su uso en el estudio de la dinámica de crecimiento folicular y luteal, en ovarios de ovejas y cabras (Schrick *et al.*, 1993; Ginther and Kot, 1994; Lopez-Sebastian *et al.*, 1997).

El CL es la principal estructura durante la fase luteal del ciclo estral de los mamíferos y el principal responsable del mantenimiento de la gestación en la mayoría de estas especies (Niswender and Nett, 1993). Su presencia o ausencia en el ovario, ha sido clásicamente detectada por métodos complejos e indirectos, tales como niveles de progesterona en fluidos corporales (ej. plasma), o por métodos invasivos como la laparotomía y laparoscopia. No obstante, la presencia de los CL también puede ser evaluada a través del uso de la US en tiempo real (Bartlewski *et al.*, 1999; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2000).

Los hallazgos obtenidos en estudios anteriores, no solamente han señalado la posibilidad que tiene la US para detectar el tejido luteal, sino también para determinar su función a través de la determinación de su tamaño. En este sentido, el tamaño del CL determinado por la US, está correlacionado positivamente con la secreción de progesterona (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2000). No obstante, a pesar de que todos los estudios han sido llevados a cabo en ovejas de lana, la precisión de la US para la medición exacta del tejido luteal no ha sido establecida en ovejas de pelo, las cuales se caracterizan por su pequeño tamaño corporal, en relación a las razas de lana (Braford y Fitzhugh, 1986). Por esta razón, el objetivo de este estudio fue evaluar la eficiencia del uso de la US (a través de los hallazgos PM), para la determinación de la presencia, número y tamaño del CL, en ovejas de pelo, ya que se hace necesario validar una técnica la cual pueda ser igualmente empleada en ovejas de pelo, para de esta manera ampliar y profundizar el conocimiento de su fisiología reproductiva.

Cabe mencionar, que durante la realización del presente trabajo, un estudio parecido fue publicado en ovejas de lana (Viñoles *et al.*, 2004); analizándose de esta forma, las similitudes y diferencias entre ambos estudios.

Materiales y Métodos

Animales y diseño experimental

La presencia y características de las estructuras luteales, fueron evaluadas en 29 ovejas de pelo con diferentes cruces (West African x Barbados Barriga Negra x Persa cabeza Negra). Este estudio fue llevado a cabo a lo largo de la estación de lluvias del 2004 (Mayo a Octubre), usando animales manejados bajo condiciones extensivas y procedentes de dos rebaños, ubicados en dos estados de Venezuela. Durante la evaluación US, las ovejas fueron colocadas y fijadas en decúbito dorsal, en una camilla de sujeción. El estudio US fue llevado a cabo usando un ecógrafo (Aloka SSD 500, Meditron, C.A., Venezuela) provisto con un transductor transrectal de 7.5 MHz, diseñado para la evaluación de la próstata humana. Previo a la evaluación US, las heces fueron removidas manualmente de la ampolla rectal y seguidamente fue administrado un gel hidrosoluble, con la finalidad de evitar daños en la mucosa rectal y mejorar la transmisión de las ondas emitidas por el transductor. Posteriormente, la sonda fue colocada dentro del recto con el transductor, perpendicularmente, orientado

hacia la pared abdominal. Los CLs, fueron identificados como estructuras hipoeoicas y homogéneas, en relación con el estroma ovárico (Schrick *et al.*, 1993). La imagen ecográfica de cada CL fue congelada cuando su mayor diámetro fue visualizado; asimismo, el diámetro fue determinado colocando los calibradores electrónicos del ecógrafo en la interfase ubicada entre el tejido luteal y el estroma ovárico. Seguidamente, las ovejas fueron humanitariamente sacrificadas y los ovarios fueron recolectados, fijados y cortados en rebanadas de un 1 mm de espesor, hasta obtener el mayor diámetro del tejido luteal, el cual fue obtenido usando un calibrador metálico con una sensibilidad de 1 mm (Figura 1).

Análisis estadístico

La precisión de la US para la detección de la presencia del tejido luteal y de la tasa de ovulación por ovario, fue obtenida en base a los hallazgos PM. La evaluación de la US fue establecida empleando los términos de: sensibilidad ($a/a + c$), especificidad ($b/b + d$) y valores predictivos positivo ($a/a + b$) y negativo ($c/c + d$; Cuadro 1).



Figura 1. Imágenes: ecográfica (superior) y macroscópica (inferior) de un cuerpo lúteo (CL) y del estroma (S) ovárico ovino.

Se llevó a cabo un análisis de correlación de Pearson, entre los hallazgos por US y PM, en base a la presencia y número de CL. Las comparaciones entre los diámetros obtenidos por los hallazgos US y PM, fueron evaluados usando un análisis de la varianza de una sola vía (ANOVA). Los resultados fueron expresados como media \pm E.E.M y el establecimiento de sus diferencias, fueron consideradas estadísticamente significativas al $P < 0.05$. Asimismo,

se determinó el número de CLs cuyos diámetros (obtenidos por US y PM) presentaron los siguientes rangos de error: 1) entre 0 y 10%, 2) >10 y 20%, 3) >20 y 30% y 4) más de 30%. Finalmente, para evaluar la relación entre las medidas de los cuerpos lúteos realizadas por US y PM, se llevó a cabo un análisis de regresión lineal. Los análisis estadísticos, se llevaron a cabo usando el programa estadístico Statgraphics plus (versión 5.1).

Resultados

Un total de 20 de 29 ovejas (68.9%), presentaron al menos un CL en el momento de la evaluación PM; sumando un total de 24 ovarios que portaron al menos un CL. Veintiuno de estos ovarios (87.5%) tuvieron un CL y tres (12.5%) presentaron dos CLs. El

57.1% (12/21) y el 42.9% (9/21) de las ovulaciones ocurrieron en el ovario derecho e izquierdo respectivamente. No se detectaron cuerpos hemorrágicos ni de cavidades centrales en los CLs estudiados tanto por US como por PM.

Cuadro 1. Tabla de contingencia (2 x 2) para la comparación de estructuras luteales detectadas por ecografía transrectal (US) y por hallazgos postmortem (PM) en ovejas de pelo.

Resultados por US	Resultados por PM		Total
	Presencia	Ausencia	
Presencia	a	b	a + b
Ausencia	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	n

Los resultados de sensibilidad y especificidad de la US, para la detección de la presencia de tejido luteal, alcanzaron 83.3 y 97.1% ($r = 0.77$; $P < 0.001$), respectivamente; y los valores predictivos positivo y negativo fueron 95.2 y 89.2%, respectivamente. La sensibilidad y especificidad de la US para la identificación de aquellos ovarios con una sola ovulación, fueron 85.7 y 96.8% ($r = 0.84$; $P < 0.001$), respectivamente; y los valores predictivos positivo y negativo, fueron de 94.7 y 91.6%, respectivamente. Hubo pocos ovarios ($n = 3$) con más de un CL, obteniéndose una muy baja sensibilidad para la determinación del número de

CLs en aquellos ovarios con más de una ovulación (33.3%; 1/3).

No hubo diferencias estadísticas entre los diámetros promedios de los CLs, obtenidos por ambos métodos. Adicionalmente, los análisis de los rangos de error de los diámetros obtenidos por US y por PM, demostraron que el mismo no sobrepasó el 20%, en el 77% de los CLs estudiados (Cuadro 2). La ecuación obtenida del análisis de regresión lineal para evaluar la relación el diámetro (mm) obtenido por US y PM fue: $US = 4.7 + 0.5 \times PM$ ($P < 0.05$; $r^2 = 0.3$; $n = 18$).

Discusión

Los resultados obtenidos en el presente estudio, confirman que la US es un método preciso para la detección de la presencia y tamaño de las estructuras luteales en ovejas de pelo con ovulaciones simples en cada ovario, ya que los valores de sensibilidad y especificidad obtenidos fueron muy similares a los reportados en ovejas de lana y cabras (Viñoles *et al.*, 2004; Simoes *et al.*, 2005).

La falla en la detección de algunos CLs observada en el presente estudio, pudiera ser atribuida al hecho de que la mayoría de estas estructuras se ocurrieran en una fase luteal tardía (debido a que no hubo cuerpos hemorrágicos después de las observaciones PM). Esta circunstancia puede inducir a confusión de los patrones ecográficos del estroma ovárico y el tejido luteal en regresión; siendo estos errores reportados en estudios llevados a cabo tanto en ovejas de lana como en vacas (Hanzen *et al.*, 2000; Veronesi *et al.*, 2002; Viñoles *et al.*, 2004). Asimismo, la presunción de que la mayoría de las ovejas estuvieran en una fase luteal tardía, pudiera ser reforzada por el hecho

que en el presente estudio, no se detectaron cavidades centrales en los CLs, siendo esto contrario a reportes previos en ovejas, donde se hallaron hasta un 30% de CLs con cavidad (Schrick *et al.*, 1993; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2000; Duggavathi *et al.*, 2003; Viñoles *et al.*, 2004). Las posibles causas de estas diferencias, pudiesen atribuirse al hecho de que la mayoría, o sino todas las cavidades luteales, desaparecen durante de la fase luteal media y tardía (Bartlewski *et al.*, 1999).

La baja sensibilidad obtenida en relación a la determinación del número de CL, en ovarios con más de una ovulación, coincidió con estudios previos en los que se destaca la dificultad de diferenciar los CLs individuales de las masas de tejido luteal con más de un CL (Dickie *et al.*, 1999; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 1999; Viñoles *et al.*, 2004).

Adicionalmente y en este sentido, la experiencia del operador pudiera haber afectado la eficiencia de la detección de estos CLs individuales durante la fase luteal tardía o en ovejas con agrupaciones de dos o

Cuadro 2. Diámetro promedio del tejido luteal obtenido tanto por ecografía transrectal (US) como hallazgos postmortem (PM), en ovarios que llevaron cuerpos lúteos ($n=18$), y número y proporción de cuerpos lúteos (CL) agrupados por porcentaje de error en las mediciones del diámetro del CL.

Hallazgos	Diámetro (mm; media \pm E.E.) ^{ns}
US	9,5 \pm 0.4
PM	8,8 \pm 0.4
Diferencias porcentuales entre los diámetros obtenidos por US y PM	
	n (%)
0 - 10%	8 (44)
> 10 - 20%	6 (33)
> 20 - 30%	1 (6)
> 30%	3 (17)

más CLs en el mismo ovario (Ribadu *et al.*, 1994; Simoes *et al.*, 2005).

Según los resultados del presente estudio, el uso de la US ha probado ser una herramienta eficiente para la determinación del diámetro del CL. Asimismo, la exactitud del análisis de regresión resultó ser menor, pero cercana a la reportada por Viñoles *et al.* (2004; $r^2 = 0.4$, $n = 35$), siendo esto posiblemente atribuido al bajo número de los CLs medidos. Este hallazgo es muy importante para aquellos estudios que evalúan la función ovárica y luteal, ya que el tamaño del CL ha sido relacionado con la secreción de progesterona (Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2000). Asimismo la efectividad en la detección de las estructuras

luteales pudieran mejorar durante la mitad de la fase luteal, debido a que las imágenes ecográficas del estroma y del tejido luteal pueden ser mayormente diferenciadas que durante las fases tardías de la fase luteal (Hanzen *et al.*, 2000; Veronesi *et al.*, 2002).

En conclusión, la US es un método rápido para la evaluación del estado funcional del CL, evitando el uso de métodos más complejos tales como la laparoscopia o los análisis hormonales. Asimismo, se demostró que la eficiencia de la US en la detección de aquellos ovarios con un solo CL, sin embargo, esta eficiencia disminuyó en aquellos ovarios que presentaron más de un CL.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el FONACIT (proyecto S1-2002000413) y por el Programa Ramón y Cajal. Los autores quieren expresar sus agradecimien-

tos a Yomaira Abraham por su ayuda durante la fase experimental del estudio.

Literatura Citada

- Bartlewski, P. M., A. P. Beard, and N. C. Rawlings, 1999. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology*. 52: 115.
- Dickie, A. M., C. Paterson, J. L. M. Anderson and J. S. Boyd, 1999. Determination of corpora lutea numbers in Booroola-Texel ewes using transrectal ultrasound. *Theriogenology*. 51: 1209.
- Duggavathi, R., P. M. Bartlewski, A. P. Pierson and N. C. Rawlings, 2003. Luteogenesis in cyclic ewes: echotextural, histological and functional correlates. *Biol. Reprod.* 69: 634.
- Ginther, O. J. and K. Kot, 1994. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*. 42: 987.
- Gonzalez de Bulnes, A., K. Osoro and A. Lopez Sebastian, 1999. Ultrasonographic assessment of the ovarian response in eCG-treated goats. *Small Rumin. Res.* 34: 65.
- Gonzalez de Bulnes, A., J. Santiago Moreno, A. Gomez Brunet and A. Lopez Sebastián, 2000. Relationship between ultrasonographic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration during the oestrous cycle in monovular ewes. *Reprod. Dom. Anim.* 35: 65.
- Griffin, P. G. and O. J. Ginther, 1992. Research application of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim. Sci.* 70: 953.
- Hanzen, C., M. Pietrse, O. Scenczi. and M. Drost, 2000. Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per rectum. *Veterinary Journal*. 159: 161.
- Lopez-Sebastian, A., A. Gonzalez de Bulnes, J. Santiago Moreno, A. Gomez Brunet, E. C. Townsend and E. K. Inskeep, 1997. Patterns of follicular development during the estrous cycle in monovular Merino del Pais ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 48: 279.
- Niswender, G. D. and T. M. Nett, 1993. Corpus luteum and its control in infraprimate species. In: E. Knobil and J. D. Neill, (Ed.). *The Physiology of Reproduction*, Vol 1, Raven Press, New York.
- Ribadu, A. Y., W. R. Ward and H. Dobson, 1994. Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Vet. Rec.* 135: 452.
- Schrick, F.N., R. A. Surface, J. Y. Pritchard, R. A., Dailey, E. C. Townsend and E. K. Inskeep, 1993. Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes. *Biol. Reprod.* 49: 1133.
- Simoes J., J. Potes, J. Azevedo, J. C. Almeida, P. Fontes, G. Baril and R. Mascareñas, R., 2005. Morphometry of ovarian structures by transrectal ultrasonography in Serrana goats. *Anim. Reprod. Sci.* 85: 263.
- Veronesi, M. C., G. Gabai, M. Battochio, A. Mollo, F. Soldano, G. Bono and F. Cairoli, 2002. Ultrasonographic appearance of tissue is a better indicator of CL function than CL diameter measurement in dairy cows. *Theriogenology*. 58: 61.
- Viñoles C., A. Meikle and M. Forsberg, 2004. Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography. *Anim. Reprod. Sci.* 80 (1-2): 69.