

Evaluación de la técnica de ecografía transrectal en la detección de folículos ováricos en ovejas tropicales

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

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, Maracay

²Departamento de Reproducción Animal, SGIT-INIA, Madrid, España, e-mail: bulnes@inia.es

Recibido Julio, 20, 2006. Aceptado Octubre 10, 2006.

Assessment of transrectal ultrasonography for detection of ovarian follicles in hair sheep

ABSTRACT. This study evaluated the accuracy of transrectal ultrasonography (US) for the determination of ovarian follicles in hair sheep. Number and size of follicles in 24 ovaries (n= 12 ewes) were determined using an ultrasound machine (Aloka SSD 500), fitted with a 7.5 MHz transrectal probe. The ovaries were collected just after US, for measurement of the number and size of follicles (postmortem findings; PM). There were no differences in the number of small (2 to 2.9 mm), medium (3 to 3.9 mm), large (≥ 4 mm) and total follicles/ovary as detected by US and PM (1.3 ± 0.3 vs 1.6 ± 0.3 ; 0.5 ± 0.2 vs 0.8 ± 0.2 ; 0.5 ± 0.2 vs 0.5 ± 0.2 ; and 2.3 ± 0.3 vs 2.9 ± 0.4 ; respectively). The sensitivity and predictive value of US for detection of follicles in each category were 71.1, and 87%; 68.4, and 100%; 91.7, and 100%; 73.9, and 92.7%, respectively; the correlation coefficients (r) for number of small, medium, large and total follicles being 0.75, 0.83, 0.96 and 0.75 ($P < 0.001$), respectively. It was concluded that US is an efficient tool for detection and measurement of ovarian follicles in studies of the reproductive physiology in hair ewes.

Key word: Assessment, Ultrasonography, Ovarian follicles, Hair ewe.

RESUMEN. El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficacia de la ecografía transrectal (US), en la detección de folículos ováricos en ovejas de pelo. Para ello el número y tamaño de los folículos procedentes de 24 ovarios (n= 12 ovejas), fueron detectados empleando ecógrafo (Aloka SSD 500), provisto con un transductor transrectal de 7,5 MHz. Seguidamente, los ovarios fueron recolectados para la determinación macroscópica del número y tamaño de los folículos presentes (hallazgos postmortem; PM). Los resultados obtenidos demostraron que no hubo diferencias en el número de folículos pequeños (2 a 2,9 mm), medianos (3 a 3,9 mm), grandes (≥ 4 mm) y totales/ovario, evaluados tanto por US como por PM ($1,3 \pm 0,3$ vs $1,6 \pm 0,3$; $0,5 \pm 0,2$ vs $0,8 \pm 0,2$; $0,5 \pm 0,2$ vs $0,5 \pm 0,2$; y $2,3 \pm 0,3$ vs $2,9 \pm 0,4$; respectivamente). La sensibilidad y el valor predictivo de la US para la detección de los folículos en cada una de las categorías, fueron de 71.1 y 87%; 68,4 y 100%; 91,7 y 100%; 73,9 y 92,7%, respectivamente. Los análisis de correlación (r) para el número de folículos pequeños, medianos, grandes y totales, detectados por US y PM fueron: 0,75, 0,83, 0,96 y 0,75 ($P < 0,001$), respectivamente. Se concluye que la US es una herramienta eficaz para la detección y medición de folículos ováricos, la cual puede ser empleada para el estudio de la fisiología reproductiva de la oveja tropical.

Palabras clave: Evaluación, Ultrasonografía, Folículos ováricos, Ovejas de pelo.

Introducción

El folículo ovárico es la principal estructura encargada de la producción de gametos y de la secreción de esteroides en la hembra mamífera (Setchell, 1974; Kanchev *et al.*, 1976; Spicer y Echtenkamp,

1985). Los trabajos llevados a cabo para evaluar su función, han sido realizados usando tanto técnicas indirectas (por determinación de las concentraciones de estradiol en plasma; Fortune *et al.*, 1988), como

¹Autor para la correspondencia, e-mail: contreri@ucv.ve

directas, siendo estas últimas realizadas, principalmente, por procedimientos invasivos tales como los histológicos (Hutchinson y Robertson, 1966), los quirúrgicos (laparotomía; Smeaton y Robertson, 1971) y por laparoscopia (Noël *et al.*, 1993).

Desde inicio de los años 90, la ecografía ha tomado un gran auge como herramienta de elección, para el estudio de las estructuras ováricas en diferentes especies de animales domésticos (Griffin y Ginther, 1992). Su aplicación es altamente recomendada en pequeños rumiantes, debido al tamaño de estos y de sus estructuras genitales (Schrick *et al.*, 1993; Ginther y Kot, 1994; Lopez-Sebastian *et al.*, 1997). Así mismo, esta técnica posee la ventaja de permitir varias observaciones en un mismo animal, sin alterar su fisiología reproductiva, lo que permite su uso en estudios

reproductivos, donde es necesario efectuar varias mediciones a través del tiempo.

Existen varios estudios que evalúan la fiabilidad de la ecografía para la evaluación de folículos ováricos ovinos; sin embargo, todos ellos han sido realizados en ovejas de lana (Schrick *et al.*, 1993; Gonzalez-De Bulnes *et al.*, 1994; Viñoles *et al.*, 2004). Tal situación arroja la necesidad de comprender la fisiología ovárica en la oveja de pelo, a través del uso de dicha técnica, con la finalidad de optimizar los procesos reproductivos de esta especie bajo condiciones tropicales. Por esta razón, el presente estudio tiene como objetivo evaluar la eficiencia de la ecografía transrectal (US) en la determinación de la presencia, número y tamaño de folículos en ovejas tropicales.

Materiales y Métodos

2.1. Animales y diseño experimental

Doce ovejas mestizas de la raza West African (destinadas a sacrificio), fueron usadas en el presente estudio, durante el mes de Mayo de 2004 (estación de lluvias). Las mismas provenían de un rebaño manejado bajo condiciones extensivas, en un hato localizado en el estado Apure, Venezuela (7° 45' N). Previamente al estudio, los animales fueron seleccionados por la gerencia del hato, para su sacrificio, por presentar una baja condición corporal entre 1,5 y 2 (escala de 0 a 5; Russel *et al.*, 1969) y, por no tener partos registrados después de las dos últimas temporadas de monta. A pesar de esta condición, los animales presentaron población folicular al momento de la evaluación ecográfica, no afectando el objetivo del presente estudio.

La evaluación ecográfica transrectal (US), fue realizada usando un ecógrafo en modo B (Aloka SSD 500, Meditron, C.A., Venezuela), provisto de un transductor lineal de 7,5 MHz, diseñado para la evaluación de próstata en humanos. Las observaciones fueron conducidas fijando la oveja en una camilla metálica, en posición decúbito dorsal. Las heces fueron removidas manualmente del recto y posteriormente un gel hidrosoluble fue introducido, con la finalidad de evitar daños a nivel de la mucosa rectal y mejorar la transmisión de la imagen ecográfica. Seguidamente, la sonda fue colocada dentro de la ampolla rectal, orientando el transductor perpendicularmente hacia la pared abdominal.

Los folículos, fueron identificados como estructuras anecoicas, cuando se compararon con el estroma ovárico (Schrick *et al.*, 1993). La medición de los folículos ($n = 24$ ovarios), fue realizada colocando

los calibreadores (calipers) electrónicos, en el límite ubicado entre la pared folicular y el estroma ovárico. Inmediatamente, las ovejas fueron sacrificadas y los ovarios recolectados, fijados y cortados en cortes de 1 mm de espesor, con la finalidad de obtener el mayor diámetro del folículo. Para la medición post-mortem (PM), se empleó un vernier (calibrador manual) con una precisión de 1 mm (Figura 1).

2.2. Análisis estadístico.

Los folículos detectados en cada ovario, por US y PM, fueron agrupados según su diámetro en las siguientes categorías: pequeños (2 a 2.9 mm), medianos (3 a 3.9 mm), grandes (≥ 4 mm) y folículos totales (≥ 2 mm). La comparación de los datos obtenidos por ambos métodos, permitió establecer la fiabilidad de la US (Cuadro 1) en términos de sensibilidad (porcentaje de folículos correctamente identificados; $a/(a + c) \times 100$ y el valor predictivo (número de folículos detectados ecográficamente/total de folículos hallados positivos por US y aquellos diagnosticados como falsos positivos; $a/(a + b) \times 100$. La comparación del número de folículos (pequeños, medianos, grandes y totales; media \pm EEM) por ovario, detectados por ambos métodos, fue realizado usando un análisis de la varianza (ANOVA) de una sola vía (Chacín, 2000). La asociación entre el número de folículos (en cada categoría) detectados por US y aquellos detectados por hallazgos PM, fue llevada a cabo usando un análisis de correlación de Pearson (Steel y Torrie, 1988). Se consideró un nivel de significancia de $P < 0.05$, para establecer las diferencias estadísticas. Los análisis estadísticos, se llevaron a cabo usando el programa estadístico Statgraphics plus (versión 5.1).

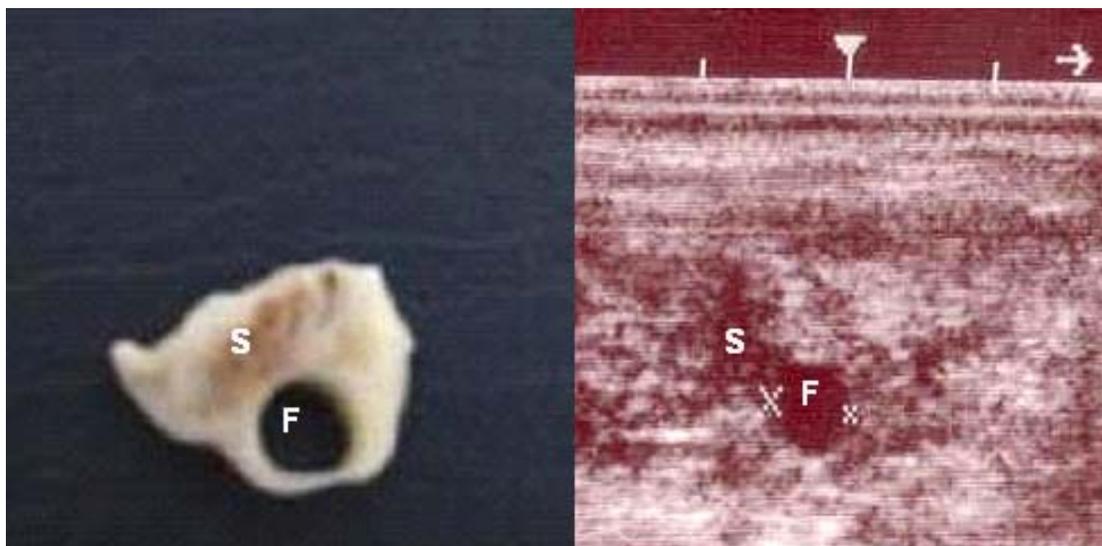


Figura 1. Derecha: Imagen ecográfica del ovario con un folículo $\geq 4\text{mm}$ (F); Izquierda: su imagen postmortem. Nótese parte del estroma ovárico (S).

Resultados y Discusión

En el presente estudio, no se encontraron diferencias entre el número de folículos pequeños ($1,29 \pm 0,3$ vs $1,58 \pm 0,3$), medianos ($0,54 \pm 0,2$ vs $0,79 \pm 0,2$), grandes ($0,46 \pm 0,2$ vs $0,50 \pm 0,2$) y totales ($2,3 \pm 0,3$ vs $2,9 \pm 0,4$) por ovario, detectados tanto por US como por hallazgos PM, respectivamente. Durante el estudio, hubo 5 y 4 animales, los cuales no se les detectaron folículos medianos tanto por US y por hallazgos PM, respectivamente; igualmente hubo la misma cantidad de ovejas los cuales no se les detectaron folículos grandes por ambos métodos. La proporción de los folículos pequeños, medianos y grandes fue: 55,1; 27,5 y 17,4%, respectivamente. Estos resultados fueron menores que los reportados por Gonzalez-De Bulnes *et al.* (1994) en ovejas de lana con adecuada condición corporal ($4,1 \pm 0,4$). Probablemente, esta diferencia pueda ser debida a la baja condición corporal de los animales estudiados, producto de un bajo consumo de alimento (McNeilly *et al.*, 1987; Rhind y McNeilly, 1998). No obstante, aunque el número de

los folículos en cada categoría (pequeños, medianos y grandes) fue inferior en estas ovejas (comparadas con las ovejas de lana), se puede inferir la presencia de una actividad de recambio folicular, lo que se evidenció en la proporción de folículos pequeños, medianos y grandes, lo cual fue similar a los respectivos valores obtenidos por Viñoles *et al.* (2004; 55, 24 y 21% y por González-De Bulnes *et al.* (1994; 56, 30 y 15%. Esta alta proporción de folículos pequeños y el bajo porcentaje de folículos medianos y grandes, igualmente coincidió con la población de folículos durante el ciclo estral, obtenidos en estudios donde se usó la US (Lopez-Sebastian *et al.*, 1997; Evans *et al.*, 2000). Este hallazgo pudiera indicar que la actividad ovárica, en términos de recambio folicular dentro del ovario, persiste, a pesar de la baja condición corporal de los animales, tal como se ha reportado en vacas con balance energético negativo durante el postparto (Stagg *et al.*, 1995).

La comparación entre los hallazgos por US y PM,

Cuadro 1. Tabla de contingencia (2×2) para la comparación de folículos detectados 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

Cuadro 2. Sensibilidad, valor predictivo y correlación de los hallazgos ecográficos (US) comparados con los postmortem (PM) en la detección de folículos de diferentes tamaños.

	Tamaño (mm)			Total
	2 - 2,9	3 - 3,9	≥ 4	
Números, Folículos detectados por US	27	13	11	51
Números, Folículos detectados por PM	38	19	12	69
Sensibilidad	71,1	68,4	91,7	73,9
Valor predictivo	87,1	100	100	92,7
Correlación***	0,75	0,83	0,96	0,75

*** = P<.001.

reflejó que la ecografía es una herramienta fiable para la evaluación de los folículos ováricos en aquellas ovejas con población folicular deprimida. En este sentido, la técnica ecográfica, permitió detectar el 73,9% de los folículos totales presentes en los ovarios. Asimismo, la eficiencia de la US, en términos de sensibilidad, aumentó a medida que se incrementó el diámetro del folículo (Cuadro 2); siendo similar a resultados previos de González-De Bulnes *et al.* (1994; 79,8%), pero menor a los Schrick *et al.* (1993; 93%).

En el presente estudio, las diferencias entre los folículos detectados por US y por observación directa (PM), fueron causadas por subestimación, lo cual coincide con la mayoría de los reportes en ovejas de lana (Schrick *et al.*, 1993; Gonzalez-De Bulnes *et al.*, 1994), cabras (Simoes *et al.*, 2005) y vacas (Mc Dougall *et al.*, 1995). En cambio, en un estudio llevado a cabo por Viñoles *et al.* (2004) en ovejas, los folículos detectados por US, fueron sobreestimados. Esto fue debido, a que los folículos detectados en una clase, pertenecieron a otra clase en el hallazgo PM, atribuyéndose este hecho a un error en la medición ecográfica.

A pesar que la ecografía tuvo un valor predictivo de un 100% para la detección de los folículos medianos, su sensibilidad fue menor a la observada para los folículos pequeños (68,4% vs 71,1%). Esta situa-

ción probablemente fue debida, a una subestimación de los folículos de 3 mm, los cuales fueron considerados como folículos de 2 mm por US. Esto a su vez, es explicado por el valor predictivo obtenido en los folículos pequeños detectados por US (87,1%), lo que indica la incorporación de falsos positivos en los folículos que pertenecieron a esta categoría. Tal subestimación puede ser atribuida, al pequeño tamaño de estos folículos a la experiencia por parte del operador en el estudio realizado (Dickie *et al.*, 1999; Viñoles *et al.*, 2004). Contrariamente a lo anteriormente expuesto, los parámetros de sensibilidad y de correlación entre los folículos observados por US y PM ≥ 4 mm, fueron altos en comparación a los folículos pequeños y medianos, lo cual coincide con lo señalado por Simoes *et al.* (2005). No obstante, los altos valores de eficiencia, en términos de sensibilidad y valor predictivo, obtenidos en el presente estudio, puede ser atribuido, a la baja condición corporal de los animales, lo cual se traduce en un menor número de folículos, facilitando de esta manera su detección.

Estos hallazgos nos permiten concluir que la ecografía es una técnica fiable, en la detección de folículos ováricos de ovejas tropicales y constituye una herramienta idónea para uso en estudios de fisiología ovárica en este tipo de ovejas.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Yomaira Abraham, por su valiosa ayuda durante la realización del presente estudio. Igualmente, se agradece al FONACIT

(proyecto S1-2002000413) y al Programa Ramón y Cajal, por el financiamiento del presente trabajo.

Literatura Citada

Chacín, F., 2000. Diseño y análisis de experimentos. Ediciones del Vicerrectorado Académico de la Universidad Central de Venezuela. Maracay.

Dickie, A. M., C. Paterson, J. L. M. Anderson and J. S. Boyd. 1999. Determination of corpora lutea number in booroola-texel ewes using transrectal ultrasound. *Theriogenology*. 51: 1209.

- Evans, A. C. O., P. Duffy, N. Hynes, and M. P. Boland. 2000. Waves of follicles development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology*. 53: 699.
- Fortune, J. E., J. Sirois and S. M. Quirk. 1988. The growth and differentiation of ovarian follicles during the bovine estrous cycle. *Theriogenology*. 29: 95.
- Ginther, O. J. and K. Kot. 1994. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenology*. 42: 987.
- González De Bulnes, A., J. Santiago Moreno, M. García López, A. Gómez Brunet y A. López-Sebastián. 1994. Observación del ovario en la oveja y eficacia en la detección de folículos y cuerpos lúteos mediante ecografía transrectal. *Investigación Agrícola* 9 (3): 319.
- Griffin, P. G. and O. J. Ginther. 1992. Research application of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim. Sci.* 70: 953.
- Hutchinson, J. S. and H. A. Robertson. 1966. The growth of the follicle and corpus luteum in the ovary of the sheep. *Res. Vet. Sci.* 7: 17.
- Kanchev, L. N., H. Dobson, W. R. Ward and R. J. Fitzpatrick. 1976. Concentration of steroids in bovine peripheral plasma during oestrous cycle and the effect of betamethasone treatment. *J. Reprod. Fertil.* 48: 341.
- López-Sebastián, A., A. González de Bulnes, J., Santiago Moreno, A. Gómez 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.
- McDougal, S., C. R. Burke and K. L. MacMillan. 1995. Pattern of follicular development during periods of anovulations in pasture-fec dairy cows after calving. *Res. Vet. Sci.* 58: 212.
- McNeilly, A.S., J. A., Jonassen, and S.M. Rhind. 1987. Reduced ovarian follicular development as a consequence of low body condition in ewes. *Acta Endocrinol.* (Copenhagen). 115: 75.
- Nöel, B., J. L. Bister and R. Paquay. 1993. Ovarian follicular dynamic in Suffolk ewes at different periods of the year. *J. Reprod. Fertil.* 99: 695.
- Rhind, S. M. and A. S., McNeilly. 1998. Effects of level of food intake on ovarian follicle number, size and steroidogenic capacity in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.* 52: 131.
- Russel, A. J. F., J. M. Doney and R. G. Gunn. 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci.* 72: 451.
- 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.
- Setchell, B. P. 1974. The contributions of Regnier de Graaf to reproductive biology. *Eur. J. Obst. & Gyn. Reprod. Biol.* 4: 1.
- Simoës, J., J. Potes, J. Azevedo, J. C. Almeida, P. Fontes, G. Baril, and R. Mascarenhas. 2005. Morphometry of ovarian structures by transrectal ultrasonography in Serrana goats. *Anim. Reprod. Sci.* 85: 263.
- Smeaton, T. C. and H. A. Robertson. 1971. Studies on the growth and atresia of graafian follicles in the ovary of the sheep. *J. Reprod. Fertil.* 25: 243.
- Spicer, L. J., and S. E. Echtenkamp. 1985. Ovarian follicular growth, function and turnover in cattle: a review. *J. Anim. Sci.* 62: 428.
- Stagg, K., M. G. Diskin, J. M. Sreenan and J. F. Roche. 1995. Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. *Anim. Reprod. Sci.* 38: 49.
- Steel, R. G. D. y J. H. Torrie., 1988. *Bioestadística: principios y procedimientos.* (2da Ed.). McGraw Hill, México.
- Viñoles, C., A. Meikle and M. Forsberg. 2004. Accuracy of evaluation of ovarian structures by transrectal ultrasonography. *Anim. Reprod. Sci.* 80: 69.