



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Características del ciclo estral, desarrollo embrionario y determinación de la tasa de preñez en yeguas criollas colombianas

María del Pilar Paredes Higuera

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Bogotá, Colombia
2013

Características del ciclo estral, desarrollo embrionario y determinación de la tasa de preñez en yeguas criollas colombianas

María del Pilar Paredes Higuera

Trabajo presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Salud Animal

Director
(DMVZ, MSc, PhD) Aureliano Hernández Vásquez

Codirectora
(MV, MSc, DVSC) Claudia Jiménez Escobar

Línea de Investigación:
Fisiología de la reproducción animal

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Bogotá D.C., Colombia
2013

A mis padres ejemplo de vida que siempre me han impulsado a alcanzar mis sueños.

A mis hermanos y familia por su apoyo constante y desinteresado.

A mi esposo Leonardo y mis hijos, Margarita y Jacobo, quienes con su paciencia y amor me brindaron la fuerza y la voluntad necesaria para culminar este proyecto.

A la Universidad Nacional de Colombia, a la DIB y al área de Posgrados de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia por la financiación de esta investigación.

A Fedequinas por la colaboración en la financiación de este trabajo.

Al Criadero Agropecuaria La India, San Juan, El Encanto y Villa Johana ubicados en el área rural de Pereira por permitir realizar el estudio en sus ejemplares.

A los propietarios de los criaderos equinos, Sr. Germán Gaviria, Sr. Juan Guillermo Henao y Dr. Luis Carlos Peñuela; y a todos los palafreneros y trabajadores por su disposición y colaboración permanente.

A los médicos veterinarios Andrea Serrano y David Echeverry, por su colaboración en esta investigación mientras realizaban sus actividades de pasantía.

A mi familia y amigos, siempre presentes en mi vida con su apoyo, consejos y motivación constante.

Finalmente a todos los docentes y evaluadores que aportaron sus conocimientos, opiniones y comentarios durante la elaboración de este trabajo.

Agradecimientos

A todas las personas y entidades que hicieron posible este trabajo.

Al Dr. Aureliano Hernández Vásquez por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección. Su apoyo y confianza en este trabajo, sus valiosas enseñanzas y su capacidad para guiar con paciencia el desarrollo de las ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo y culminación de esta tesis, sino también en mi formación como investigador.

A la Dra. Claudia Jiménez Escobar por acogerme para elaborar este proyecto; por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de este trabajo. Además por su disponibilidad, enseñanzas, apoyo y dedicación constante que hicieron posible la culminación de este trabajo y que han contribuido en mi crecimiento como profesional.

A Dra. Amparo Cortés por la guía y colaboración en el procesamiento y lectura de las muestras llevado a cabo en el Laboratorio de Hormonas de Posgrados de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia.

A la Dra. Angela Gonella por el asesoramiento y la ayuda en el análisis estadístico de este trabajo.

A la Universidad Nacional de Colombia, a la DIB y al área de Posgrados de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia por la financiación de esta investigación.

A Fedequinas por la colaboración en la financiación de este trabajo.

Al Criadero Agropecuaria La India, San Juan, El Encanto y Villa Johana ubicados en el área rural de Pereira por permitir realizar el estudio en sus ejemplares.

A los propietarios de los criaderos equinos, Sr. Germán Gaviria, Sr. Juan Guillermo Henao y Dr. Luis Carlos Peñuela; y a todos los palafreneros y trabajadores por su disposición y colaboración permanente.

A los médicos veterinarios Andrea Serrano y David Echeverry, por su colaboración en esta investigación mientras realizaban sus actividades de pasantía.

A mi familia y amigos, siempre presentes en mi vida con su apoyo, consejos y motivación constante.

Finalmente a todos los docentes y evaluadores que aportaron sus conocimientos, opiniones y comentarios durante la elaboración de este trabajo.

Resumen

Para contribuir al establecimiento de valores de referencia durante el ciclo estral (CE) y la gestación temprana en yeguas Criollas colombianas (CC), se realizó seguimiento de la dinámica folicular y del diámetro del cuerpo lúteo (CL) durante dos CE consecutivos por medio de ultrasonografía (US) transrectal diariamente. Se emplearon 30 yeguas entre 4 a 14 años de edad, ubicadas en Pereira (Colombia). Además se tomaron muestras de sangre cada 48 horas durante un CE para cuantificar niveles de P4 por la técnica de radioinmunoanálisis (RIA). Al final del segundo CE las yeguas se inseminaron artificialmente; se evaluó el diámetro del CL y del útero por US y se cuantificaron los niveles de P4. El diagnóstico de preñez se realizó al detectar un conceptus; desde ahí hasta el día 40 postovulación se evaluó diariamente el crecimiento, la ubicación y la forma del conceptus. Se realizó estadística descriptiva, análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias entre los CE y una prueba de correlación entre el diámetro del CL y P4. La duración del CE fue $21,5 \pm 1,8$ días (promedio \pm desviación estándar). La tasa de crecimiento diario del folículo dominante (FD) fue de $1,62 \pm 0,4$ mm. El tamaño máximo del FD fue $44,3 \pm 4,8$ (34,9 – 53,0 mm). En el 63% de los CE el FD se ubicó en el ovario derecho y en el 37% en el izquierdo. La duración del estro fue de $5,9 \pm 1,8$ días. El diámetro del CL el día cero fue $25,1 \pm 4,5$ (16,8 – 38,2 mm) y el tamaño final $8,5 \pm 0,9$ (7,5 – 9,4 mm) el día 20 del CE. Los niveles máximos de P4 durante el CE se encontraron al día 6 postovulación y fueron de $10,7 \pm 4,3$ (2,51 – 18,8 ng/ml). La concentración sérica de P4 durante el diestro fue $6,6 \pm 3,6$ ng/ml y durante el estro $0,25 \pm 0,3$ ng/ml. El diagnóstico de gestación ocurrió en promedio el día $10,4 \pm 0,8$. La tasa de crecimiento del conceptus fue $1,65 \pm 0,1$ mm/día; su fijación al útero sucedió el día $16,8 \pm 1,5$. El embrión se visualizó dentro de la vesícula el día $20,8 \pm 1,7$. La tasa de crecimiento del embrión fue $0,8 \pm 0,3$ mm/día; el latido cardiaco se detectó desde el día 23,9. El 66,6% de las vesículas embrionarias se ubicaron en la unión útero cornual derecha; el 79,1% ipsilateral al CL; la máxima concentración de P4 durante la gestación se alcanzó el día 6 postovulación ($13,5 \pm 4,6$ ng/ml). La tasa de preñez fue de 80% (24/30); es decir que en el 20% de las yeguas (6/30) no se detectó ningún conceptus hacia el día 15 postovulación y presentaron calor pocos días después. Los parámetros reproductivos de la yegua CC son similares a los descritos para otras razas de equinos, aunque hay algunas diferencias que deben tenerse en cuenta en las valoraciones clínicas. Los valores aquí reportados pueden ser el punto de partida para establecer valores de referencia de utilidad clínica y para futuros estudios de investigación.

Palabras clave: ciclo estral, crecimiento folicular, cuerpo lúteo, embrión, progesterona, yeguas.

Abstract

As a contribution to determine reference values during the estrous cycle and early gestation in colombian criollo mares, ultrasonographical transrectal determination ovarian follicle and corpus luteum size was employed during 2 consecutive estrous cycles (EC) and the first 40 days of gestation. Serum progesterone (P4) levels were also measured by radioimmunoassay in samples obtained every 48 hours. Four to 14 years-old mares were used, located in Pereira (Colombia). The animals were artificially inseminated at the end of the second EC. The detection of a conceptus within the uterus was assessed by daily ultrasound (US) examination, and its growth, shape, location and size established. Descriptive statistics and analysis of variance (ANOVA) were used to determine differences between the two EC studied and a test of correlation to CL diameter and serum P4 levels values. The estrous cycle duration was $21,5 \pm 1,8$ days (mean \pm standard deviation). The daily growth rate of the dominant follicle (DF) was $1,62 \pm 0,4$ mm. The maximum size of FD was $44,3 \pm 4,8$ (34,9 – 53,0 mm). In 63% of EC studied, the FD was located in the right ovary and 37% in the left. The duration of estrus was $5,9 \pm 1,8$ days. The diameter of the CL on day zero was $25,1 \pm 4,5$ (16,8 – 38,2 mm) and the final size $8,5 \pm 0,9$ (7,5 – 9,4 mm) on day 20 of the EC. The maximum levels of P4 were found on day 6 post-ovulation and was $10,7 \pm 4,3$ (2,51 – 18,8 ng/ml). The serum concentrations of P4 during diestrus was $6,6 \pm 3,6$ ng/ml during estrus $0,25 \pm 0,3$ ng/ml. Pregnancy diagnosis occurred on average $10,4 \pm 0,8$ days. The conceptus growth rate was $1,65 \pm 0,1$ mm/day, their fixation to the uterus was the day $16,8 \pm 1,5$. The embryo was visualized on $20,8 \pm 1,7$. Embryo's growth rate was $0,8 \pm 0,3$ mm/day, the heartbeat was detected for the first time, from day 23,9; 66,6% of embryonic vesicles were located in the right cornual uterine junction, 79,1% ipsilateral to the CL, the highest concentration of P4 was reached on day 6 post-ovulation ($13,5 \pm 4,6$ ng / ml). The pregnancy rate was 80%. The mare reproductive parameters of the CC are similar to those described for other breeds of horses, although there are some differences that must be considered in clinical assessments. The values reported here may be the starting point for establishing reference useful values in the clinical practice and future research works.

Keywords: estrous cycle, follicular growth, corpus luteum, embryo, progesterone, mares

Contenido

| | Pág. |
|---|------|
| Resumen | IX |
| Lista de figuras | XIII |
| Lista de tablas | XV |
| Introducción | 1 |
| Objetivos | 4 |
| Hipótesis | 6 |
| 1. Revisión de literatura del ciclo estral y de la gestación temprana en yeguas; | 7 |
| 1.1 Ciclo estral de la yegua | 7 |
| 1.2 Onda folicular ovulatoria | 10 |
| 1.3 Gestación temprana y mortalidad embrionaria | 18 |
| 1.4 Referencias | 24 |
| 2. Estudio del intervalo interovulatorio en yeguas criollas colombianas; | 31 |
| 2.1 Resumen | 31 |
| 2.2 Introducción | 32 |
| 2.3 Materiales y métodos | 35 |
| 2.3.1 Palpación rectal y ultrasonografía | 35 |
| 2.3.2 Análisis estadístico | 37 |
| 2.4 Resultados | 38 |
| 2.4.1 Seguimiento del ciclo estral | 38 |
| 2.4.2 Dinámica folicular | 39 |
| 2.4.3 Grado de edema uterino | 43 |
| 2.4.4 Duración del estro | 45 |
| 2.5 Discusión | 46 |
| 2.6 Conclusiones y recomendaciones | 51 |
| 2.7 Referencias | 53 |
| 3. Diámetro del cuerpo lúteo y progesterona sérica durante el ciclo estral en yeguas criollas colombianas. | 57 |
| 3.1 Resumen | 57 |
| 3.2 Introducción | 58 |
| 3.3 Materiales y métodos | 60 |
| 3.3.1 Animales y condiciones medioambientales | 60 |
| 3.3.2 Seguimiento ultrasonográfico | 60 |
| 3.3.3 Cuantificación de los niveles séricos de progesterona | 61 |
| 3.3.4 Análisis estadístico | 61 |
| 3.4 Resultados | 61 |
| 3.4.1 Desarrollo del cuerpo lúteo durante el ciclo estral | 62 |
| 3.4.2 Cuantificación de los niveles séricos de progesterona durante el ciclo estral | 66 |

| | | |
|---------------------|---|------------|
| 3.5 | Discusión..... | 67 |
| 3.6 | Bibliografía..... | 71 |
| 4. | Progesterona sérica y algunas características uterinas y embrionarias en la gestación temprana de yeguas criollas colombianas..... | 73 |
| 4.1 | Resumen..... | 73 |
| 4.2 | Introducción..... | 74 |
| 4.3 | Materiales y métodos..... | 76 |
| 4.3.1 | Animales y condiciones medioambientales..... | 76 |
| 4.3.2 | Seguimiento ultrasonográfico..... | 77 |
| 4.3.3 | Cuantificación de los niveles séricos de progesterona..... | 78 |
| 4.3.4 | Diseño estadístico..... | 78 |
| 4.4 | Resultados..... | 78 |
| 4.4.1 | Características de la vesícula embrionaria..... | 79 |
| 4.4.2 | Ubicación y diámetro del cuerpo lúteo..... | 81 |
| 4.4.3 | Diámetro y edema uterino durante la gestación..... | 83 |
| 4.4.4 | Cuantificación de los niveles séricos de progesterona durante el periodo embrionario de la gestación..... | 84 |
| 4.5 | Discusión..... | 85 |
| 4.6 | Conclusiones..... | 90 |
| 4.7 | Referencias..... | 92 |
| 5. | Progesterona sérica, diámetro del cuerpo lúteo y características del útero en yeguas gestantes y no gestantes..... | 95 |
| 5.1 | Resumen..... | 95 |
| 5.2 | Introducción..... | 96 |
| 5.3 | Materiales y métodos..... | 97 |
| 5.3.1 | Análisis estadístico..... | 99 |
| 5.4 | Resultados..... | 99 |
| 5.4.1 | Ubicación y diámetro del cuerpo lúteo..... | 100 |
| 5.4.2 | Diámetro y edema uterino durante la gestación..... | 101 |
| 5.4.3 | Cuantificación de los niveles séricos de progesterona..... | 102 |
| 5.5 | Discusión..... | 104 |
| 5.6 | Referencias..... | 107 |
| 6. | Discusión, conclusiones y recomendaciones ¡Error! Marcador no definido | 109 |
| 6.1 | Conclusiones..... | 109 |
| 6.2 | Recomendaciones..... | 111 |
| A. | Anexo: Identificación y datos de cada yegua..... ¡Error! Marcador no definido | 113 |
| B. | Anexo: Recolección de datos durante el seguimiento ultrasonográfico del ciclo estral ¡Error! Marcador no definido | 115 |
| C. | Anexo: Recolección de datos durante el seguimiento ultrasonográfico de la gestación temprana..... | 116 |
| Bibliografía | ¡Error! Marcador no definido | 117 |

Lista de figuras

| | Pág. |
|---|-------------|
| Figura 1-1: Niveles hormonales y actividad ovárica durante el ciclo estral de la yegua..... | 10 |
| Figura 1-2: Diámetro folicular en yeguas..... | 12 |
| Figura 1-3: Perfil de crecimiento de la vesícula embrionaria..... | 22 |
| Figura 1-4: Concentración de progesterona sérica y promedio del diámetro del cuerpo lúteo en yeguas gestantes y no gestantes..... | 23 |
| Figura 2-1: Porcentaje de animales con la duración del ciclo estral correspondiente en yeguas criollas colombianas..... | 39 |
| Figura 2-2: Valores promedio y desviaciones estándar de la duración en días del primero y segundo ciclos estrales de cada yegua criolla colombiana..... | 39 |
| Figura 2-3: Curva de crecimiento del folículo dominante y del folículo subordinado en el ciclo estral de yeguas criollas colombianas (n=30) y día promedio de ocurrencia de la selección y desviación folicular..... | 41 |
| Figura 2-4: Porcentaje de ubicación del folículo dominante en el ciclo estral de yeguas criollas colombianas (n=30)..... | 41 |
| Figura 2-5: Porcentaje del diámetro máximo alcanzado por el folículo dominante antes de la ovulación durante los dos ciclos estrales estudiados en yeguas criollas colombianas (n=30)..... | 43 |
| Figura 2-6: Grado de edema uterino y diámetro folicular alcanzado en el momento de la ovulación durante los dos ciclos estrales estudiados en yeguas criollas colombianas (n=30). | 44 |
| Figura 2-7: Imagen ultrasonográfica de edema uterino grado 0 (A), grado 1 (B), grado 2 (C) y grado 3 (D) durante diferentes momentos del ciclo estral..... | 45 |
| Figura 3-1: Valor promedio del diámetro del cuerpo lúteo durante el ciclo estral de yeguas criollas colombianas (n=30)..... | 62 |
| Figura 3-2: Valor promedio del diámetro del CL durante los dos ciclos estrales consecutivos de yeguas criollas colombianas (n=30)..... | 63 |
| Figura 3-3: Imagen ultrasonográfica del cuerpo lúteo en diferentes días del ciclo estral en yeguas criollas colombianas..... | 65 |
| Figura 3-4: Valores promedio de los niveles séricos de progesterona (ng/ml) y del diámetro del cuerpo lúteo durante el ciclo estral de yeguas criollas colombianas (n=30)..... | 66 |
| Figura 3-5: Valores promedio de los niveles séricos de progesterona (ng/ml) durante el ciclo estral de yeguas criollas colombianas (n=30) comparados con una yegua que presentó ovulación doble..... | 67 |
| Figura 4-1: Diámetro promedio de la vesícula embrionaria durante los primeros 40 días de la gestación en yeguas criollas colombianas (n=24)..... | 79 |
| Figura 4-2: Cambio en la forma de la vesícula embrionaria durante los primeros 40 días de la gestación en yeguas criollas colombianas (n=24)..... | 80 |

| | |
|---|-----|
| Figura 4-3. Diámetro promedio del embrión durante los primeros 40 días de la gestación en yeguas criollas colombianas (n=24)..... | 81 |
| Figura 4-4: Imagen ultrasonográfica de la vesícula embrionaria y del embrión durante la gestación temprana en yeguas criollas colombianas..... | 82 |
| Figura 4-5: Diámetro promedio del cuerpo lúteo primario (n=24) y del cuerpo lúteo accesorio (n=3) durante los primeros 40 días de la gestación en yeguas criollas colombianas..... | 83 |
| Figura 4-6: Niveles de progesterona sérica y diámetro del cuerpo lúteo en yeguas gestantes durante los primeros 40 días de la gestación (n=24)..... | 85 |
| Figura 5-1: Rango de edades de las yeguas usadas en el estudio y edad promedio en las yeguas gestantes y no gestantes ($p < 0,05$)..... | 100 |
| Figura 5-2: Diámetro promedio del cuerpo lúteo en yeguas preñadas durante los primeros 40 días de la gestación (n=24) y en yeguas no preñadas hasta el día 15 postovulación (n=6)..... | 101 |
| Figura 5-3: Niveles de progesterona sérica en yeguas preñadas durante los primeros 40 días de la gestación (n=24) y en yeguas no preñadas hasta el día 15 postovulación (n=6)..... | 103 |
| Figura 5-4: Niveles de progesterona sérica y diámetro del cuerpo lúteo en yeguas preñadas (n=24) y en yeguas no preñadas (n=6) hasta el día 15 postovulación..... | 103 |

Lista de tablas

| | Pág. |
|--|------|
| Tabla 1-1: Estudios ultrasonográficos sobre mortalidad embrionaria y fetal en yeguas..... | 19 |
| Tabla 2-1: Sistema de puntuación subjetiva para edema endometrial en la yegua.... | 37 |
| Tabla 2-2: Sistema de puntuación subjetiva para detección de estro en la yegua..... | 37 |
| Tabla 3-1: Valores promedio del diámetro del cuerpo lúteo en yeguas criollas colombianas (n=29) durante el primer ciclo estral..... | 64 |
| Tabla 3-2: Valores promedio del diámetro del cuerpo lúteo en yeguas criollas colombianas (n=30) durante el segundo ciclo estral..... | 64 |
| Tabla 4-1: Sistema de puntuación subjetiva para edema endometrial en la yegua... | 78 |
| Tabla 4-2: Diámetro \pm desviación estándar del diámetro de la base, del cuerpo y de los cuernos del útero en yeguas gestantes desde el día 0 hasta el día 15 postovulación..... | 84 |
| Tabla 5-1: Sistema de puntuación subjetiva para edema endometrial en la yegua..... | 98 |
| Tabla 5-2: Diámetro \pm desviación estándar del diámetro de la base, del cuerpo y de los cuernos del útero en yeguas gestantes y no gestantes desde el día 0 hasta el día 15 postovulación..... | 102 |

Introducción

La especie equina ha tomado gran importancia en nuestro país, aumentando así el interés de realizar investigaciones para profundizar y comprender sus condiciones fisiológicas y patológicas en el trópico. En la encuesta Nacional Agropecuaria del año 2009 se reporta una población equina en Colombia de 3.159.403 ejemplares; representada por 2.505.579 caballos, 220.847 asnales y 432.977 mulares (www.agronet.gov.co/ENA2009). La industria equina genera empleos directos e indirectos y es de gran importancia en el manejo de ganaderías, labores del campo y deportes ecuestres, entre otras actividades de interés; además no se puede desconocer la importancia de la industria equina, y especialmente del caballo criollo colombiano, el cual tiene un gran potencial económico en el mercado interno y externo por el costo de los ejemplares y la comercialización de semen y embriones.

El principal fin de un programa de reproducción de un criadero es la producción de embriones y de crías vivas; para hacer más eficiente la reproducción en los equinos es necesario conocer la fisiología del ciclo estral y de la gestación de la yegua y así poder establecer parámetros de normalidad o anormalidad. Los estudios en cuanto a dinámica folicular, ovulación, causas de repetición de celos, desarrollo embrionario temprano, porcentajes de fertilidad, pérdidas embrionarias tempranas y otros parámetros reproductivos son fundamentales para establecer el comportamiento reproductivo normal. Todos estos parámetros han sido ampliamente estudiados en otros países y otras razas de equinos pero no existe suficiente investigación en la fisiología reproductiva de la yegua criolla colombiana en nuestro medio para determinar si el ciclo estral tiene características similares o difiere con lo reportado en la literatura.

La máxima eficiencia reproductiva de la yegua se obtiene con la aplicación correcta de las prácticas de manejo y con el uso de biotecnologías que brinden un soporte para

mejorar y comprender la dinámica reproductiva; la implementación de estas biotecnologías reproductivas en un criadero permite la manipulación del ciclo estral y determinar el momento óptimo para realizar la inseminación, natural o artificial, para asegurar la preñez y evitar pérdidas económicas por repetición de servicios; de igual manera esto se puede aplicar al seguimiento continuo de los animales para prevenir la presentación de mortalidad embrionaria, abortos y otros problemas reproductivos.

El ultrasonido es una herramienta eficaz para analizar el tracto reproductivo y determinar el momento de inseminar una yegua o para diagnosticar preñez temprana o enfermedades y para la investigación en el área de reproducción animal, en la cual se han hecho grandes aportes al permitir el estudio y análisis de la dinámica del ciclo estral, el seguimiento de la gestación y el posparto, la identificación de patologías del sistema reproductivo, la determinación del sexo fetal, la viabilidad embrionaria y la aspiración folicular, entre otras aplicaciones (Giraldo 2003; Griffin y Ginther 1992).

La muerte embrionaria en yeguas hace referencia a la pérdida de la preñez desde el día 11 al día 40 de gestación, cuando termina el período embrionario y comienza el fetal (descrito por Ginther 1998; Meyers et al. 1991). En otros países hay reportes de muerte embrionaria en yeguas; la mayoría se han asociado con procesos inflamatorios del útero como la endometritis, que puede inducir a un proceso de luteólisis prematura. Otras causas son la insuficiencia luteal primaria, las fallas en el mecanismo de reconocimiento materno de la gestación que resultan en una disminución de la concentración de progesterona, los defectos o anomalías del embrión y alteración del medio ambiente oviductal y uterino (Sevinga et al. 1999; Papa et al. 1998; Ball 1988). El seguimiento continuo de la vesícula embrionaria puede ayudar a establecer indicadores de normalidad o anomalía en el crecimiento, desarrollo y morfología de la vesícula; y así identificar gestaciones en riesgo de mortalidad embrionaria.

La ultrasonografía transrectal es de gran importancia para el diagnóstico de la muerte embrionaria tardía y es útil para determinar las posibles causas de la baja tasa de preñez en yeguas (Pal et al. 2001; Griffin y Ginther 1992). Las pérdidas embrionarias afectan directamente la tasa de preñez y repercuten negativamente sobre la economía de los criaderos equinos, por esto, es necesario dilucidar los factores que pueden afectar el

desarrollo del conceptus y determinar patrones de normalidad o anormalidad en el seguimiento ultrasonográfico del embrión.

La comprensión de los eventos fisiológicos del ciclo reproductivo y de la gestación temprana de la yegua permite conocer y definir las posibles limitantes de su capacidad reproductiva y aplicar correctivos con el fin de mejorar y aumentar la eficiencia reproductiva de cada animal y por ende, de los criaderos equinos, y así fomentar la conservación y mejoramiento de esta raza. Con el auge que existe actualmente en el país del caballo criollo, es importante investigar aún más las características de su fisiología, para aumentar su eficiencia reproductiva y conocer parámetros de referencia para futuros estudios que contribuyan a la preservación de la raza de caballos criollos colombianos.

Objetivos

3.1 Objetivo general

Caracterizar las posibles variaciones en cuanto a la duración del ciclo estral y del estro, el desarrollo de los folículos del ovario, el momento de la ovulación, el tamaño del cuerpo lúteo, el desarrollo embrionario temprano, la tasa de preñez y de mortalidad embrionaria; así como los niveles séricos de progesterona durante el ciclo estral y la gestación temprana en yeguas criollas colombianas.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar la duración del ciclo estral y de su fase folicular y luteal en yeguas criollas colombianas.
- Establecer el diámetro y la tasa de crecimiento del folículo ovárico en las diferentes fases de la dinámica folicular.
- Analizar la dinámica folicular incluyendo la emergencia, la selección, la dominancia, el tamaño folicular al inicio del celo y el crecimiento diferencial entre folículos.
- Determinar las variaciones en el grado de edema uterino en las diferentes fases del ciclo estral y de la gestación.
- Evaluar la tasa de crecimiento del conceptus en los primeros 40 días de la gestación.
- Evaluar la tasa de preñez y de pérdida embrionaria en los primeros 40 días de la gestación.

- Correlacionar las características ecográficas del útero y del folículo preovulatorio con la ovulación.

- Determinar los niveles de progesterona (P4) en suero durante el ciclo estral y la gestación temprana por medio de radioinmunoanálisis (RIA)

Hipótesis

En este trabajo de investigación se pretende demostrar que,

Ho: Existen diferencias en la tasa de crecimiento folicular, el tamaño del cuerpo lúteo, el diámetro del folículo ovulatorio, la duración del ciclo estral y del estro, el nivel de progesterona sérica, el porcentaje de preñez y la tasa de pérdidas embrionarias en el grupo de animales analizados.

H1: No existen diferencias en la tasa de crecimiento folicular, el tamaño del cuerpo lúteo, el diámetro del folículo ovulatorio, la duración del ciclo estral y del estro, el nivel de progesterona sérica el porcentaje de preñez y la tasa de pérdidas embrionarias en el grupo de animales analizados.

1.Revisión de literatura del ciclo estral y de la gestación temprana en yeguas

1.1 Ciclo estral de la yegua

El ciclo estral (CE) de la yegua se define como el intervalo de tiempo entre una ovulación y otra, en el cual se encuentran concentraciones de progesterona (P4) <1 ng/ml y evidencia de conducta de estro; su duración es aproximadamente de 21 días y presenta dos fases, la folicular y la luteal (Pryor y Tibary 2005; Daels y Hughes 1993).

En la fase folicular la yegua es receptiva al macho como consecuencia de la producción de estrógenos (E) y los niveles séricos de P4 en este periodo son bajos (<1 ng/ml) (Evans et al. 1997). En esta etapa se facilita la cópula, el ascenso de los espermatozoides a través del tracto genital de la hembra y la fertilización bajo la influencia de los E. En general el estro tiene una duración de 5 a 7 días pero esto puede variar entre 2-12 días. El periodo del estro cambia según la estacionalidad; en los países del hemisferio norte tiende a ser de mayor duración y a presentar folículos ovulatorios más grandes durante la primavera y el verano (época reproductiva) y a medida que avanza el año hay estros de menor duración con folículos ovulatorios más pequeños hasta un periodo de anestro (invierno) (Pryor y Tibary 2005). También puede ser de mayor duración en yeguas de más edad; en promedio 4,3 días más largo en yeguas de raza grande y 2,6 días en razas de menor tamaño; este incremento parece ocurrir como resultado de una fase folicular de superior duración debido probablemente a la presencia de folículos de menor diámetro (Madill 2002).

El comportamiento de estro en la yegua puede ser observado por un promedio de 5 a 7 días; la duración depende de la yegua y del período estacional. Durante el estro la yegua presenta un comportamiento específico caracterizado por incremento en la micción, receptividad al macho, levantamiento de la cola y eversión rítmica del clítoris, conocida como “guiño vulvar”; este comportamiento se determina tradicionalmente por la exposición de la yegua al caballo

para observar los signos de celo y la intensidad de éstos, los cuales pueden variar de una yegua a otra (Pryor y Tibary 2005). La fase luteal, tiene una duración relativamente constante de 14 a 16 días y en esta fase se presentan altos niveles de P4 ($>1\text{ng/ml}$) producidos por el cuerpo lúteo (CL) (Pryor y Tibary 2005). Durante el diestro no hay receptividad hacia el macho y la P4 produce cambios en el tracto reproductivo como son el incremento del tono uterino y el cierre del cérvix (Daels y Hughes 1993).

Gaitán (1987) en un estudio en el pie de monte llanero, donde se realizó seguimiento del CE por medio de recelaje (detección del estro) y vaginoscopia a 10 yeguas criollas, reporta un promedio de duración del estro de 7,5 días y del diestro de 28,3 días y una duración total del CE de 32 a 39 días, lo cual presenta diferencias con lo reportado en la literatura (Pryor y Tibary 2005; Ginther 1995; Daels y Hughes 1993). En este trabajo no se encontraron diferencias entre la presentación y duración del CE con relación a las condiciones medioambientales y época del año. En una investigación posterior en la Sabana de Bogotá, se realizó seguimiento del CE por medio de ultrasonografía a un grupo de yeguas criollas colombianas ($n=10$), López y Rodríguez (2005) encontraron una duración promedio del CE de $20,5 \pm 1,43$ días, de la fase luteal de $13,9 \pm 1,52$ días y $6,6 \pm 0,84$ días de estro, lo cual representa ciclos más cortos comparados con los reportes de la literatura.

Los cambios a través del CE son controlados por hormonas producidas por el hipotálamo, la hipófisis, la glándula pineal, los ovarios y el útero. La regulación de la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) producida por el hipotálamo está dada por señales que provienen de centros cerebrales y de la glándula pineal, haciendo que la información sea susceptible al medioambiente y a la luz del día (Daels y Hughes 1993). Las yeguas son animales poliéstricos estacionales y poseen un ritmo reproductivo circadiano endógeno, el cual es afectado por factores externos como el fotoperíodo, la temperatura ambiental y la condición corporal y nutricional de los animales (Markovic et al. 2003; Nagy et al. 2000). La dopamina, los opioides y la melatonina son los mediadores de transducción neuroendocrina más conocidos que interfieren con el encéfalo y con la función gonadal; aunque el mecanismo de acción de la dopamina en el control de la reproducción no es completamente claro en los equinos, se cree que de manera similar a otros neurotransmisores, la dopamina ejerce una inhibición tónica a nivel hipotalámico sobre el control reproductivo y compite o inhibe los receptores de la prolactina y esta a su vez controla

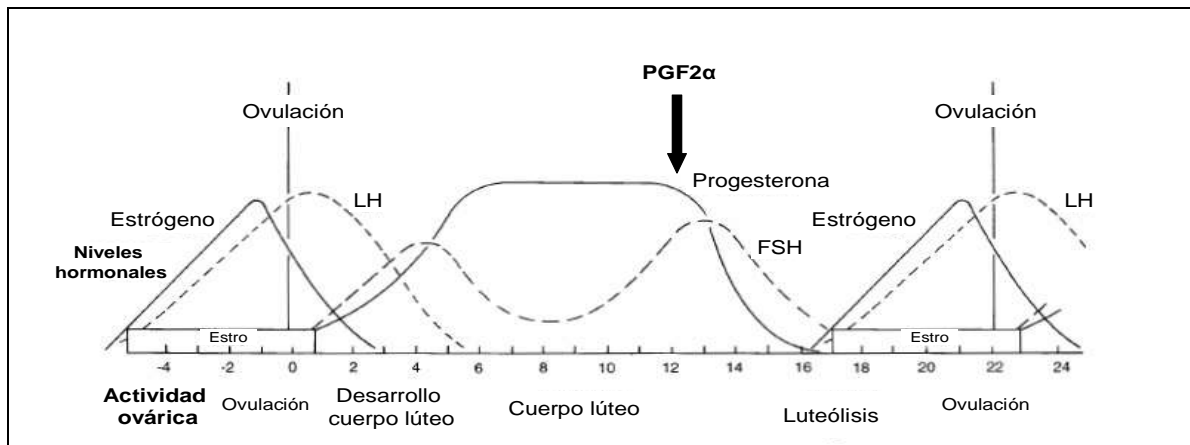
la secreción de LH, hormona que actúa como la señal neuroendocrina para la ovulación (Nagy et al. 2000). En el hemisferio norte, muchas yeguas permanecen en anestro en respuesta a la reducción del fotoperíodo entre noviembre y febrero. La producción de melatonina por la glándula pineal en respuesta a la oscuridad resulta en la liberación de pulsos cortos y de baja frecuencia de GnRH y bajos niveles de LH (hormona luteinizante). Con el aumento de la duración de la luz durante la primavera (marzo a abril), los pulsos de GnRH incrementan su frecuencia llevando a una estimulación gradual de la secreción de FSH (hormona folículo estimulante) y de la LH, lo cual reinicia el desarrollo folicular ovárico (Bergfelt y Adams 2007). Este comportamiento es diferente en condiciones tropicales; en un estudio en México (19°21' latitud norte) en el cual se realizó seguimiento de la actividad ovárica por medio de ultrasonografía y perfiles de P4, aunque se evidenció una disminución de la actividad en épocas de menor intensidad lumínica, más del 60% de las yeguas continuaron ovulando en este período (Boeta et al. 2006).

La síntesis de GnRH ocurre en las células neurosecretoras del hipotálamo (área medio basal) encontradas en el centro tónico y centro regulador; y estimula al lóbulo anterior de la hipófisis para producir FSH y LH, que actúan en el ovario. La producción de GnRH en pulsos de alta amplitud y baja frecuencia estimula la liberación de FSH, mientras que pulsos de GnRH de baja amplitud y de alta frecuencia estimulan la producción de LH. La FSH actúa sobre las células foliculares y se encarga de iniciar el crecimiento folicular durante el diestro tardío; la LH tiene receptores en las células tecales y es la responsable de la maduración folicular, de la producción de E, de la ovulación y de la formación y mantenimiento del CL (Daels y Hughes 1993). Como resultado de la acción constante de la LH, el folículo dominante es ovulado liberando el oocito y posteriormente se forma el CL a partir de las células de la granulosa y de las células de la teca que producirán P4; la concentración sérica de P4 aumenta rápidamente 24 horas después de la ovulación, y alcanza un nivel máximo (4-10 ng/ml) 4 a 7 días postovulación (Bergfelt y Adams 2007; Nett et al. 1976) y comienza a disminuir rápidamente, aproximadamente 14 días después de la ovulación (Nett et al. 1976; Figura 1-1).

La P4 inhibe la producción de LH pero no la de FSH; por esto la presentación de una segunda onda folicular puede causar una ovulación en el diestro aproximadamente en 10% de los ciclos. La mayor incidencia de las ovulaciones en diestro ocurren entre el día 4 y el día

10 en ausencia de edema uterino y sin signos de comportamiento de estro (Newcombe 1996). Hacia el día 13-16 del ciclo la prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) es liberada por el endometrio hacia la circulación general y alcanza el ovario por vía sistémica para producir la lisis del CL (Daels y Hughes 1993).

Figura 1-1: Niveles hormonales y actividad ovárica durante el ciclo estral de la yegua (Tomado de www.Oklahoma State University.com; Slusher 2003).



1.2 Onda folicular ovulatoria

Se han descrito una o dos ondas de crecimiento folicular durante el CE de la yegua; una onda folicular menor del ciclo estral se caracteriza por presentar un folículo grande que no alcanza un diámetro para ser ovulatorio y una onda mayor con folículos dominante y subordinados (Ginther et al. 2004; Ginther 2000). La presentación de estas ondas tiene diferencias entre razas; algunas presentan solo una onda folicular y otras razas, como la Pura Sangre Inglés (PSI), desarrollan una onda secundaria en el diestro temprano en la cual el folículo dominante puede ser ovulatorio o anovulatorio (Ginther 2000). En estos casos se detectan dos picos de FSH (día 3-5 y día 11-13), hay un retraso en la ovulación y el ciclo estral tiene mayor duración (Bergfelt y Adams 2007). Sin embargo, en general se describe una sola onda mayor en el CE equino. La ultrasonografía es una técnica muy utilizada en diferentes estudios para caracterizar la dinámica folicular (Ginther et al. 2004; Ginther 2000; 1995; Griffin y Ginther 1992). Por esta técnica se pueden detectar, en la mitad del CE, grupos de 7 a 11 folículos en crecimiento, con un diámetro mayor de 5 mm; pero es

necesario más de un examen ultrasonográfico para distinguir entre los folículos que están creciendo y los folículos en regresión (Ginther 1995).

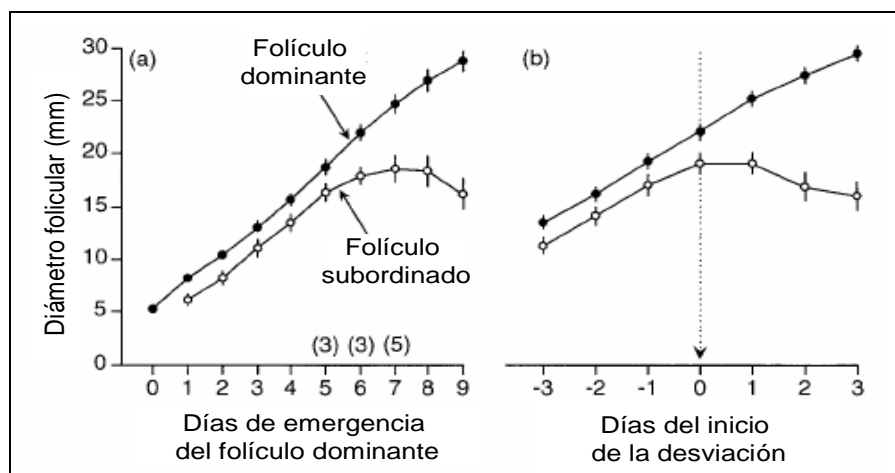
La selección folicular en especies monoovulares es el proceso donde solamente un folículo de un grupo de folículos en crecimiento, se desarrolla de una manera más rápida y continua creciendo hasta ovular. El sistema endocrino de la regulación de la foliculogénesis involucra gonadotropinas, hormonas producidas localmente y factores de crecimiento (Beg y Ginther 2006). La onda folicular se desarrolla en las diferentes fases del CE con diferentes ambientes hormonales, lo cual asegura una población folicular constante (Ginther 2000). La onda emergente es el primer grupo de folículos detectados por ultrasonografía, con un tamaño de 6 mm, usualmente ocurre cuando el folículo más grande tiene una diferencia de 2 a 3 mm de diámetro comparado con los folículos más pequeños de la onda (aproximadamente 1 día de ventaja en crecimiento) (Bergfelt y Adams 2007; Ginther 2000; Gastal et al. 1997; Figura 1-2).

La emergencia folicular está asociada con un aumento en los niveles sanguíneos de FSH (Donadeu y Ginther 2002; Ginther 2000); cuando el futuro folículo dominante alcanza 13 mm de diámetro, la concentración de FSH en la sangre alcanza su máximo nivel (15 ng/ml) y posteriormente disminuye (Gastal et al. 2000); en este momento las concentraciones circulantes de P4 están disminuidas y las de inhibina y de LH aumentan (Bergfelt y Adams 2007; Ginther et al. 2004; Donadeu y Ginther 2002; Ginther 2000). La disminución en la liberación de FSH es regulada por la población de folículos en crecimiento y aunque ésta disminuye, se requieren niveles sanguíneos bajos para estimular el crecimiento del folículo preovulatorio (Ginther 2000). Los folículos tienen una fase de crecimiento paralela (2-3mm/día) y el futuro folículo dominante tiene en promedio una ventaja en tamaño de 3 mm hasta el inicio de la desviación folicular (Donadeu y Ginther 2002). La diferencia entre la frecuencia de crecimiento del folículo dominante y la de los folículos subordinados es notoria, esto es un evento clave durante la selección del folículo ovulatorio y se denomina desviación folicular (Gastal et al. 1997).

La selección folicular es el mecanismo por el cual solamente un folículo de un grupo de varios folículos se transforma en dominante o preovulatorio (Donadeu y Ginther 2002; Ginther 2000); se presenta cuando el folículo más grande continúa creciendo y los

subordinados disminuyen su crecimiento. En el momento de la desviación se encuentran diferencias entre el diámetro de los dos folículos más grandes; se ha reportado que el diámetro promedio en el momento de la desviación es de 22 mm para el folículo de mayor tamaño y 19 mm para el segundo folículo más grande; así mismo el comienzo de la desviación se presenta 6,2 días después de la emergencia folicular (Ginther 2000; Gastal et al. 1999; Figura 1-2). Antes del inicio de la desviación, ocurren eventos bioquímicos intrafoliculares que aseguran la futura dominancia del folículo seleccionado. El mecanismo por el cual se activan estos eventos bioquímicos no es claro, pero sucede durante una disminución progresiva en los niveles de FSH y un aumento de LH (Beg y Ginther 2006). Entre los factores intrafoliculares relacionados con la activación de la desviación folicular se encuentran el sistema de factor de crecimiento insulínico (IGF), esteroides, la inhibina A y la activina A, receptores de gonadotropinas, factores angiogénicos y la proteína plasmática A asociada a la preñez (PAPP-A), entre otros (Beg y Ginther 2006; Fortune et al. 2004). Los cambios en el sistema intrafolicular IGF dentro del futuro folículo dominante son una parte fundamental de la selección de un folículo entre un grupo de folículos de similar tamaño para su posterior crecimiento, diferenciación y ovulación (Fortune et al. 2004).

Figura 1-2: Diámetro folicular en yeguas. El número de yeguas presentando desviación es indicado en el paréntesis (Gastal, et al. 1999).



Al ganar ventaja en tamaño, el folículo más grande desarrolla la capacidad de suprimir las concentraciones circulantes de FSH y de utilizar niveles basales de FSH para su desarrollo (Ginther et al. 2004). El folículo más grande tiene mayor área de superficie y por lo tanto, más receptores para la FSH, lo cual es importante para que pueda continuar su crecimiento con bajos niveles sanguíneos de FSH y ocurra la desviación folicular. La disminución en la liberación de FSH está asociada con la desviación y después de ésta, su concentración continúa disminuyendo durante varios días después (Ginther 2000). Las hormonas del fluido folicular son importantes en el control de la desviación folicular; en unas yeguas, se encontró que la concentración de estradiol aumenta en el folículo más grande antes del comienzo de la desviación folicular, lo cual se asoció con cambios en la textura de la pared folicular (Donadeu y Ginther 2002; Ginther 2000). Se cree que la inhibina puede causar un descenso en los niveles de FSH en la sangre, en efecto se halló un aumento de FSH en el plasma posterior a la administración de un antisuero contra la inhibina (Ginther 2000).

El mecanismo asociado con la selección folicular es desconocido pero parece que existe una ventaja del desarrollo de un folículo sobre otro debido a que el futuro folículo dominante tiene una mayor capacidad para la producción de E, mayor sensibilidad a la FSH y mayor especificidad para responder a la LH, a través del estímulo de receptores para LH de las células de la granulosa. Los folículos subordinados son insensibles a las bajas concentraciones sistémicas de FSH y no tienen gran cantidad de receptores de LH en las células de la granulosa; por lo tanto los folículos subordinados sufren de regresión debido a una escasa capacidad para responder a concentraciones bajas de gonadotropinas (Bergfelt y Adams 2007). En estudios recientes se demostró que las concentraciones intrafoliculares de estradiol, del factor de crecimiento insulínico (IGF-1), de Inhibina A y de Activina A aumentan diferencialmente en el futuro folículo dominante y en los folículos subordinados antes del comienzo de la desviación y por lo tanto pueden actuar como moduladores para aumentar diferencialmente la respuesta de la FSH y de la LH del futuro folículo dominante (Beg y Ginther 2006; Fortune et al. 2004; Donadeu y Ginther 2002).

En diferentes estudios en bovinos se ha encontrado evidencia que cuando el futuro folículo dominante es más grande que el resto del grupo, su fluido folicular tiene más altas concentraciones de estradiol y de PAPP-A, esto sucede en respuesta al aumento de los niveles de FSH en la circulación, y este incremento en PAPP-A lleva a un aumento en el IGF-1 libre, el cual actúa de forma sinérgica con la FSH para estimular el rápido aumento en la

producción de estradiol. Este incremento en los niveles de estradiol puede hacer una retroalimentación negativa sobre la secreción de la FSH y de esta manera evitar que otros folículos del grupo adquieran PAPP-A (Fortune et al., 2004). En equinos, se ha encontrado que la concentración de IGF-1 libre, estradiol, inhibina A y activina A es mayor en el futuro folículo dominante que en los otros folículos antes del inicio de la desviación folicular; sin embargo el IGF-1 libre es el único factor indispensable para el inicio de la desviación como se ha demostrado en experimentos de ablación folicular (Beg y Ginther 2006).

La supresión continua de FSH durante la fase de dominancia, se atribuye al efecto sinérgico de la inhibina y del estradiol; el aumento en las concentraciones circulantes de ambas hormonas se origina del folículo dominante en desarrollo o folículo ovulatorio. Aparte de este efecto inhibitorio de la FSH, el aumento en la concentración de estradiol en ausencia de P4, parece inducir el aumento de las concentraciones circulantes de LH. Se necesitan pulsos de liberación de alta frecuencia de LH para la desviación folicular y para el continuo crecimiento del folículo dominante, así como para la elección y preparación del folículo para la ovulación; se ha demostrado que la maduración folicular solo ocurre cuando los niveles de P4 son bajos (Bergfelt y Adams 2007; Ginther et al. 2005).

Ginther en 1995, mediante el uso de la ultrasonografía, encontró que el tamaño del folículo ovulatorio es el criterio más común de decisión y sencillo para estimar el momento de la ovulación. La medida relativamente exacta del tamaño folicular, especialmente cuando el folículo ha perdido su forma esférica, se puede determinar calculando el promedio de la medida de dos líneas de una imagen ultrasonográfica congelada. Esto se hace dibujando una línea de borde a borde del área central más grande, usando el marcador electrónico del ecógrafo, y otra, de borde a borde perpendicularmente a la primera línea (Ginther 1995). El diámetro promedio máximo del folículo preovulatorio es usualmente entre 40 a 45 mm en yeguas PSI, pero el rango puede ser mucho mayor (30 a 70 mm). El diámetro máximo del folículo puede ser afectado por las estaciones (5 a 8 mm más grande en primavera comparado con el verano o el otoño), por la raza (aproximadamente 3 mm de diferencia entre yeguas de carreras, 5 mm más pequeños en yeguas pony y 10 mm más grandes en yeguas de tiro comparado con las yeguas de carreras) y por múltiples ovulaciones (4 a 9 mm más pequeño en ovulaciones dobles comparado con ovulaciones simples) (Bergfelt y Adams 2007). El promedio del diámetro del folículo dominante no cambia significativamente durante

las 48 horas antes de la ovulación debido a que el crecimiento del folículo preovulatorio disminuye 24 horas antes de la ovulación. Así de esta forma el máximo diámetro folicular no se presenta, necesariamente, el día anterior de la ovulación (Madill 2002).

En yeguas criollas colombianas se reportó un promedio de diámetro del folículo ovulatorio de 43,7 mm (rango de 39-52 mm), con una tasa de crecimiento de 2,52 mm/día a partir del momento en el cual el folículo alcanzó un tamaño de 20 mm, la cual disminuyó un día antes de la ovulación (2mm/día) (López y Rodríguez 2005); estos datos son similares a los reportados en la literatura (Bergfelt y Adams 2007; Ginther 1995).

El aumento del grosor de la pared folicular (capa de la teca, lámina basal y capa de la granulosa) que precede la ovulación ha sido utilizado como un indicador de ovulación inminente (Daels y Hughes 1993). Sin embargo, en un estudio más detallado se encontraron artefactos ultrasonográficos, como sombras refractarias y reverberancias, que oscurecen los bordes antrales y del estroma ovárico de la pared y dificultan la identificación de éstos (Bergfelt y Adams 2007). Por ello, se determinó más adecuado tener en cuenta la capa de células de la granulosa como el indicador más útil de ovulación, la cual es identificada por una demarcación diferente entre el borde externo ecoico (lámina basal) y el borde interno anecoico (fluido folicular) de la pared folicular (Bergfelt y Adams 2007). Otro indicador de la ovulación puede ser la observación de una capa anecoica periférica a la capa de la granulosa; el examen ultrasonográfico diario evidencia que el grado de ecogenicidad de la capa de la granulosa y la prominencia de la capa anecoica aumentan progresivamente y alcanzan un nivel máximo 24 horas antes de la ovulación (Ginther 1995). Aproximadamente 12 horas antes de la ovulación, el 90% de los folículos dominantes se tornan más blandos, el 89% pierde su forma esférica y las yeguas se tornan más sensibles a la palpación del ovario que contiene el folículo preovulatorio (Daels y Hughes 1993; Ginther 1992). El ablandamiento del folículo preovulatorio y la sensibilidad a la manipulación del ovario pueden ser ocasionadas por la degradación enzimática y por la inflamación, las cuales están asociadas con el proceso ovulatorio. Se han realizado estudios para determinar de una manera más objetiva el ablandamiento del folículo preovulatorio realizando mediciones de tonometría transrectal, en los cuales se observó una disminución significativa de la presión folicular de 12 a 24 horas antes de la ovulación aunque minutos antes de la ovulación la presión folicular fue variable (Bragg et al. 2001). La disminución de la presión folicular, determinada por

palpación rectal, combinado con la separación de la pared folicular observada por ultrasonografía es un método confiable para predecir el momento de la ovulación.

En un estudio reciente se evaluaron, por medio de ultrasonografía transrectal, diferentes parámetros que pueden determinar el momento de la ovulación y se determinó la presencia o ausencia de una apariencia irregular de la granulosa, la disminución de la presión folicular (indicada por la presión con el transductor), la pérdida de la forma esférica, la formación del estigma de la ovulación y la presencia de manchas ecoicas flotando en el antro folicular (Gastal et al. 2006). Estos parámetros se evaluaron cada 12 horas, desde el hallazgo de un folículo de 35 mm de diámetro, con un transductor convexo de 7,5 MHz; la irregularidad de la granulosa fue el indicador detectado con mayor frecuencia en las yeguas (59%); posteriormente estos animales se examinaron cada hora hasta la ovulación y se evidenció la apariencia irregular de la granulosa y la disminución de la presión folicular en cada examen en todos los animales (Gastal et al. 2006). La incidencia de la pérdida de la forma esférica aumentó de 6 a 1 hora antes de la ovulación; la formación del estigma y las manchas ecoicas incrementaron pocas horas antes de la ovulación (Gastal et al. 2006). Estos resultados establecen que la irregularidad de la granulosa es el principal indicador para determinar el intervalo a la ovulación y que los otros indicadores también son útiles para identificar el momento de la ovulación; además estos son más fáciles de evaluar que la progresión del grosor y de ecogenicidad de la granulosa y que la evidencia de una banda anecoica descrita en los otros estudios.

La ovulación ocurre cuando hay ruptura de la pared folicular y por lo tanto el tamaño de su antro disminuye y el fluido folicular se acumula en la fosa de la ovulación (Daels y Hughes 1993). Con el uso del ecógrafo, si ha ocurrido una ovulación reciente se encuentra un área altamente ecogénica en el sitio correspondiente al folículo dominante, lo cual se debe al colapso de las paredes foliculares después de la evacuación del fluido. La duración del estro es de 5 a 7 días; la mayoría de ovulaciones (69% a 78%) ocurren durante los últimos dos días del estro y un 10% a 14% ocurren después del final del estro (Ginther 1992).

Después de la ovulación, la maduración funcional del CL primario durante el diestro temprano está caracterizada por un aumento progresivo de las concentraciones circulantes de P4 (>1 ng/ml), lo cual se relaciona estructuralmente con aumento en el diámetro o área luteal, incremento de la irrigación sanguínea y disminución de la ecogenicidad (Bergfelt y

Adams 2007). Las concentraciones máximas de P4 durante la mitad del diestro (días 5 a 7) se correlacionan con un mayor diámetro luteal, con un aumento de la irrigación sanguínea y con un nivel de baja ecogenicidad. Posterior al día 13-16 del diestro (diestro tardío) la PGF2 α es liberada por el endometrio hacia la circulación general y alcanza el ovario por vía sistémica generando la regresión funcional del CL la cual se caracteriza por una disminución progresiva de los niveles de P4 y estructuralmente por una disminución del diámetro luteal y de la vascularidad, y por un aumento en la ecogenicidad (Bergfelt y Adams 2007).

La principal característica observada en el endometrio durante el CE de la yegua es la presencia de edema, lo cual puede ser signo de competencia estrogénica de los folículos o de una reacción inflamatoria aumentada (Samper 1997). Este edema uterino está asociado a altos niveles de E en la sangre y por lo tanto a niveles basales de P4 (<1,0 ng/ml) (Pycock y Dieleman 1995). Durante el diestro no hay presencia de pliegues endometriales y el útero tiene una eco-textura homogénea; a diferencia del estro en donde se visualiza una imagen heterogénea, por medio de ultrasonografía, de apariencia ecogénica en la porción central de los pliegues y anecogénica en el área edematosa de los pliegues (Bragg et al. 2002; Ginther 1995).

El grado de edema endometrial puede ser cuantificado utilizando un sistema de clasificación subjetivo en donde se evalúa la cantidad de edema uterino y los pliegues endometriales (Samper y Pycock 2007); este sistema refleja los cambios de las concentraciones circulantes de E y de P4 y está correlacionado con el comportamiento propio del estro. El edema uterino se clasifica en una escala de cero (sin edema) a cinco (edema uterino patológico), donde cuatro representa el nivel máximo de edema normal en el útero (Samper y Pycock 2007). El grado de edema uterino combinado con el tamaño folicular es un parámetro importante para decidir el momento de la cópula. Se ha observado que los niveles bajos de edema (1-2) con la presencia de folículos grandes (>40mm) son un buen indicador predictivo de la ovulación; y niveles bajos de edema endometrial con folículos <38 mm sugieren el inicio del estro (Samper 1997). La presencia de edema uterino es el indicador más confiable de celo en la yegua normal, aún si esta no se muestra receptiva al macho. La ausencia de edema uterino con un cérvix cerrado es característica del diestro.

1.3 Gestación temprana y mortalidad embrionaria

La duración de la gestación en las yeguas es de 315 a 345 días y comprende un período embrionario desde el día cero hasta el día 40 y un período fetal después del día 40 hasta el final de la gestación (Allen 2001; Ginther 1998). La gestación en las yeguas presenta características diferentes comparada con otras especies domésticas y está determinado por cambios morfológicos, inmunológicos y endocrinos en el oviducto y el útero, importantes para el reconocimiento y mantenimiento de la preñez (Spencer et al. 2004; Sharp 2000). Durante las primeras cuatro semanas ocurre la mayor cantidad de pérdidas embrionarias (Sharp 2000; Papa et al. 1998; Meyers et al. 1991).

El rendimiento reproductivo en un criadero equino es medido por la tasa de preñez, la cual hace referencia al número de yeguas preñadas con relación a la cantidad de yeguas inseminadas y se afecta por la disminución o falla en la fertilización o en la ovulación y por las pérdidas gestacionales, que pueden ser embrionarias o fetales. La disminución de la fertilización puede ocurrir por anomalías del oocito, del espermatozoide, del medioambiente del oviducto o del transporte de los gametos dentro de él (Madill 2002).

La mortalidad embrionaria (ME) hace referencia a las pérdidas embrionarias que ocurren desde el momento de la fertilización hasta el día 40 de la gestación (Madill 2002) y se puede estimar con el número de pérdidas embrionarias con relación al número de yeguas preñadas. Según Kanitz et al. (2007) la incidencia de este evento es del 6,5% al 15%; según tales autores, una alta proporción (32%) de pérdidas gestacionales en la yegua puede ocurrir entre los días 12 y 39 después de la ovulación y disminuye a medida que avanza la gestación (Meyers et al. 1991); esto se observa por ultrasonografía como un conceptus bien desarrollado y aparentemente normal rodeado por un endometrio edematoso que terminará en relajación del cérvix y la posterior expulsión del conceptus (Allen, 2000). En la Tabla 1-1 se describen diferentes estudios que han establecido la tasa de ME en yeguas observado en diferentes intervalos de días después de la ovulación (Vanderwall y Newcombe 2007).

Las causas de la ME pueden ser de origen materno, embrionario o por factores exógenos; y donde se deben tener en cuenta los problemas infecciosos, las deficiencias nutricionales y los defectos genéticos (Kanitz et al. 2007). Diferentes autores han precisado que puede

deberse a una falla en la liberación de la señal de reconocimiento del conceptus para suprimir la luteólisis y exceso en la secreción de PGF2 α por el conceptus que induce luteólisis (Sevinga et al. 1999; Papa et al. 1998; Meyers et al. 1991). La endometritis es una de las principales causas de ME en yeguas y se ha encontrado con una alta incidencia (18,2%) entre los días 11 a 21 postovulación (Papa et al. 1998; Ball 1988).

Tabla 1-1: Estudios ultrasonográficos sobre mortalidad embrionaria y fetal en yeguas (Adaptado de Samper 2007).

| Intervalo (días) | Pérdidas/Preñadas | Mortalidad embrionaria (%) | Referencia |
|--------------------------|---------------------|----------------------------|-------------------------|
| 23 \pm 6 a 43 \pm 10 | 69/1295 | 5.3 | Chevalier y Palmer 1982 |
| 11 a 50 | 37/154 ^a | 24 | Ginther et al. 1985 |
| | 5/27 ^b | 18.5 | |
| 15 a 50 | 61/354 | 17.2 | Villahoz et al. 1985 |
| 14 a 48 | 42/404 | 10.4 | Woods et al. 1985 |
| 14 a 48 | 60/559 | 10.7 | Woods et al. 1987 |
| 18 a 42 | 13/437 | 3 | Forde et al. 1987 |
| 11 a 50 | 9/50 | 18 | Ball 1988 |
| 22 \pm 5 a 44 \pm 12 | 165/2989 | 5.5 | Chevalier-Clement 1989 |
| 15 a 35 | 85/1085 | 7.8 | Vogelsang et al. 1989 |
| 17 a 42 | 17/179 | 9.5 | Irvine et al. 1990 |
| 12 a 50 | 7/54 | 13 | Baucus et al. 1990 |
| 11 a 40 | 20/85 | 23.5 | Woods et al. 1990 |
| 18 a 45 | 10/132 | 7.6 | Lewis et al. 1991 |
| 12 a 40 | 34/509 | 6.7 | Meyers et al. 1991 |
| 12 a 39 | 14/22 * | 62 | Carnevale et al. 1992 |
| | 1/9 ** | 11 | |
| 14 a 40 | 20/229 | 8.7 | Tannus y Thun 1995 |
| 14 a 30 | 17/168 | 10.1 | Pycock et al. 1996 |
| 11 a 39 | 8/313 | 2.6 | Newcombe 1997 |
| 10 a 30 | 17/128 | 13.2 | Papa et al. 1998 |
| 14 a 50 | 31/349 | 8.9 | Barbacini et al. 1999 |
| 12 a 50 | 65/419 | 15.5 | Carnevale et al. 2000 |
| 15 a 35 | 119/1144 | 10.4 | Morris et al. 2002 |
| 14 hasta parto | 49/391 | 12.5 | Hemberg et al. 2004 |

^a Tasa de ME en ponys

^b Tasa de ME en yeguas

* Yeguas >15 años

** Yeguas de 5-7 años

La evaluación de la gestación temprana y de las pérdidas embrionarias se puede realizar por ultrasonografía y medición de los niveles de P4 y E. Algunos de los factores de riesgo para la presentación de mortalidad embrionaria son la edad avanzada de la yegua (>10 años), yeguas muy jóvenes (12 a 14 meses), historia previa de pérdida embrionaria, quistes endometriales, endometritis, preñez gemelar e inseminación en el primer estro posparto (Morel et al. 2005; Meyers et al. 1991).

En un estudio se comparó la tasa de preñez entre yeguas jóvenes (5-7 años) y yeguas mayores (>15 años) y se encontró una tasa de preñez baja al día 12 y mayor porcentaje de pérdida embrionaria (32 y 62% respectivamente) en yeguas mayores que en las jóvenes (100% y 11% respectivamente), lo cual puede evidenciar que la edad está asociada con aumento en la inflamación endometrial, bajas tasas de preñez y alto porcentaje de mortalidad embrionaria (Carnevale y Ginther 1992). Esta alta tasa de mortalidad embrionaria se debe a una mayor susceptibilidad a la infección, mayor incidencia de endometritis crónica y disminución de la función ovárica (Morel et al. 2005). Las yeguas de mayor edad también presentan otro factor de riesgo para la presentación de mortalidad embrionaria, debido a la alta incidencia de ovulaciones múltiples. Morel et al. (2005) encontró una menor incidencia de ovulación múltiple en yeguas de 2-4 años (20,7%) comparado con yeguas de 17-19 años (35,6%) las cuales también presentaron mayor tasa de mortalidad embrionaria (53,1%).

La vesícula embrionaria puede ser detectada por medio de ultrasonido transrectal desde el día nueve (5-10%) al 11 (98%) con un tamaño de 3 a 5 mm de diámetro (Ginther 1995). En este lapso el conceptus es de forma esférica, tiene un aumento de tamaño progresivo hasta el día 16 de 3 a 4 mm diarios y se mueve constantemente a través del útero (Gastal et al. 1996; Ginther 1995). Al medir el área y ancho del conceptus por ultrasonografía se estableció que la curva de crecimiento del conceptus se mantiene constante entre los días 17 a 24 (Gastal et al. 1996; Ginther 1995; 1983a). El movimiento del conceptus garantiza que la señal de reconocimiento materno de la preñez se difunda por todo el endometrio (Allen 2001) y su importancia se ha establecido en diferentes estudios realizados por medio de ultrasonografía.

Por ultrasonografía se ha establecido que la vesícula embrionaria se mueve de un cuerno al otro en promedio 10 a 20 veces por día y 0,5 veces por hora (Allen 2005; Silva et al. 2005). McDowell et al. (1998) demostró que la restricción de la movilidad del conceptus por medio de

ligadura del cuerno uterino termina en falla del reconocimiento de la preñez. Griffin et al. (1993) determinó que el conceptus promueve un aumento en el tono uterino, disminución del diámetro uterino y un aumento de las contracciones uterinas por un mecanismo local y al comparar estos parámetros en yeguas con ligadura en los cuernos uterinos y yeguas control, encontró que el tono fue mayor en los animales sin ligadura entre los 13-19 días. Al comparar el cuerno que contenía el embrión con el otro cuerno, evidenció mayor tono y menor diámetro uterino en el primero.

Con la administración de flunixin meglumine (inhibidor de la ciclooxigenasa) por vía intravenosa a yeguas preñadas, se demostró que posteriormente a su aplicación, la movilidad del embrión disminuyó notoriamente, principalmente entre los días 12 y 14 postovulación, demostrando que las prostaglandinas secretadas por el endometrio o por el conceptus son las encargadas de inducir la actividad miometrial que permite el movimiento del conceptus en el útero para distribuir la señal antiluteolítica (Stout y Allen 2001). Al utilizar una técnica de inyección transvaginal de PGE2, Gastal et al. (1998) sugieren que la PGE2 producida por el embrión tiene un papel fundamental al estimular las contracciones y aumentar el tono uterino.

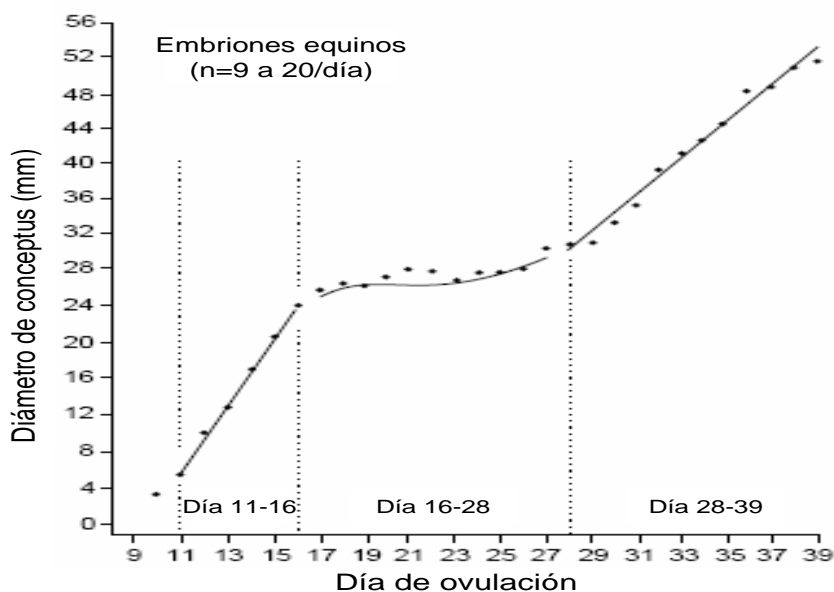
El movimiento del embrión persiste hasta el día 17 postovulación, cuando ocurre un incremento súbito en el tono miometrial que inmoviliza el conceptus fijándolo en el sitio de la posible implantación en la base de uno de los cuernos uterinos (Stout y Allen 2001; Ginther 1983a; 1983b). La fijación está dada por el aumento gradual de tono uterino, disminución del diámetro uterino y el aumento del tamaño del embrión (Ginther 1998). Esto concuerda con algunos estudios donde se ha encontrado que la fijación ocurre más temprano en yeguas jóvenes que en yeguas de mayor edad (Carnevale y Ginther 1992). Se ha establecido que la variación del diámetro de la vesícula embrionaria antes y después de la fijación es mayor (18,1%) que el cambio del diámetro uterino (1,0%), lo que sugiere que el momento de la fijación está más influenciado por el crecimiento del conceptus que por la disminución del diámetro uterino (Gastal et al. 1996). Por medio de seguimiento ultrasonográfico se ha encontrado que el tono uterino aumenta y el diámetro uterino disminuye entre el día 11 y 23 y el diámetro de la vesícula aumenta progresivamente hasta el día de la fijación, día 15 en hembras ponys y día 17 en yeguas, cuando alcanza un tamaño de $21,5 \pm 1,0$ mm (Gastal et al. 1996; Griffin y Ginther 1993).

Posterior a la fijación, el embrión cambia su forma esférica a triangular, esto sumado a la pausa en su tasa de crecimiento es atribuible al aumento del tono uterino y al engrosamiento de la pared uterina dorsal; en este momento hay un crecimiento compensatorio en la longitud del

conceptus (Ginther 1998). Después del período de crecimiento constante el conceptus comienza a crecer en promedio de 2 a 3 mm por día y adquiere de nuevo una forma esférica (Gastal et al. 1996; Ginther 1998; Ginther 1983a; Figura 1-3). La visualización del embrión en la vesícula embrionaria sucede el día 21 postovulación y la presencia de latido cardiaco se puede detectar entre el día 24 y 25 (Vanderwall et al. 2000); en diferentes reportes se ha encontrado que la vesícula embrionaria tiene un menor diámetro en yeguas que presentan pérdida gestacional comparado con el tamaño de la vesícula embrionaria en yeguas que mantienen la preñez y por esto se debe monitorear de forma continua los embriones de poco tamaño (Vanderwall et al. 2000; Papa et al. 1998; Ginther et al. 1985); también se ha reportado un menor tamaño de la vesícula en yeguas de mayor edad (Morel et al. 2005).

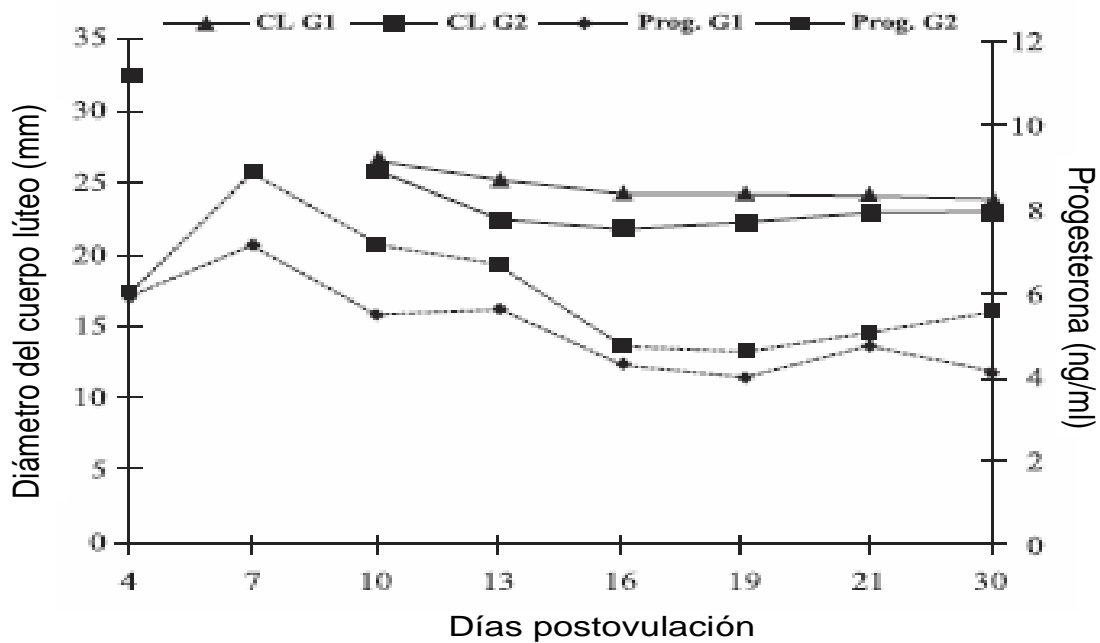
Los indicadores ultrasonográficos de pérdida embrionaria son: anomalía en la fijación, presencia de un anillo ecogénico o masa flotando en el fluido, área ecogénica en la zona del embrión muerto, ausencia de latido cardiaco y disminución gradual de fluidos de la placenta con desorganización de las membranas placentarias (Ginther et al. 1985). Se ha reportado que en estados más tempranos (día 11 a 15), un gran porcentaje de pérdidas embrionarias no presentan signos o indicadores, aunque en algunos casos se puede observar la vesícula flotando en una acumulación de fluidos (Ginther et al. 1985).

Figura 1-3: Perfil de crecimiento de la vesícula embrionaria (Adaptado de Ginther 1998).



Papa et al. (1998) reportan una tasa de pérdida embrionaria de 13,2% y que la gran mayoría de muertes sucedían entre el día 19 y 21 postovulación; en este estudio se midió el diámetro del CL a partir del cuarto día postovulación hasta el día 30 y no se encontró relación entre el diámetro del CL y el mantenimiento de la gestación (Figura 1-4); la vesícula embrionaria después del día 16 se observó de menor tamaño en las yeguas que presentaban mortalidad embrionaria. Las concentraciones sanguíneas de P4 fueron similares entre yeguas preñadas y yeguas con pérdida embrionaria descartándose la insuficiencia luteal primaria como causa de mortalidad embrionaria en estos casos analizados (Papa et al. 1998). Otros estudios reportan disminución del diámetro del CL en yeguas no preñadas desde el día 1 hasta el día 9 a diferencia de las yeguas preñadas, en las cuales también se encontraron concentraciones de P4 más altas; al comparar los grupos de yeguas de tres años con yeguas mayores de tres años se observó que estas últimas tienen tasas de preñez más altas (73% vs 57%) (Sevinga et al. 1999).

Figura 1-4: Concentración de progesterona plasmática y promedio del diámetro del cuerpo lúteo en yeguas gestantes y no gestantes. G1: yeguas preñadas, G2: yeguas con pérdida embrionaria (Tomado de Papa 1998).



1.4 Referencias

Allen WR. 2000. The physiology of early pregnancy in the mare. Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP). 46:338-354.

Allen WR. 2001. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reproduction*. 121:513–527.

Allen WR. 2005. Maternal recognition and maintenance of pregnancy in the mare. *Anim Reprod*. 2(4):209-223.

Ball BA. 1988. Embryonic loss in mares. Incidence, possible causes and diagnostic considerations. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 4(2):263-290.

Beg MA and Ginther OJ. 2006. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. *Reproduction*. 132:365-377.

Bergfelt DR and Adams GP. 2007. The normal female reproductive system. Ovulation and corpus luteum development. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. *Current Therapy in Equine Reproduction*. Missouri: Saunders Elsevier. p. 1-13.

Boeta M, Porras A, Zarco LA, Aguirre-Hernández R. 2006. Ovarian activity of the mare during winter and spring at a latitude of 19°21' north. *J Equine Vet Sci*. 26(2):55-58.

Bragg N, Pierson R, Buss D. 2001. Transrectal tonometric measurement of follicular softening and computer assisted ultrasound image analysis of follicular wall echotexture during estrus in mares. *Reproduction*. 47:242-245.

Bragg ND, Pierson RA, Card CE. 2002. Relationship between Estradiol 17 β and endometrial echotexture during natural and hormonally manipulated estrus in mares. Proceedings of the 43rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners. 48:41-47.

Carnevale EM and Ginther OJ. 1992. Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology*. 37:1101–1115.

Daels PF and Hughes JP. 1993. The normal estrous cycle. In: McKinnon AO. *Equine Reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger. p. 121-132.

Donadeu FX and Ginther OJ. 2002. Changes in concentrations of follicular fluid factors during follicle selection in mares. *Biol Reprod*. 66:1111–1118.

Evans TJ, Constantinescu GM, Ganjam VK. 1997. Clinical reproductive anatomy and physiology of the mare. In: Youngquist RS. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. Philadelphia: Saunders Elsevier. p. 43-70.

Fortune JE, Rivera GM, Yang MY. 2004. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci*. 82–83:109–126.

Gaitán AA. 1987. Duración media del ciclo estral en yeguas en el pie de monte llanero. [Tesis de Pregrado]. [Villavicencio, Colombia] Universidad Tecnológica de los Llanos Orientales.

Gastal MO, Gastal EL, Kot K, Ginther OJ. 1996. Factors related to the time of fixation of the conceptus in mares. *Theriogenology*. 46:1171–1180.

Gastal EL, Gastal MO, Bergfelt DR, Ginther OJ. 1997. Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. *Biol Reprod*. 57:1320-1327.

Gastal MO, Gastal EL, Torres CAA, Ginther OJ. 1998. Transvaginal intrauterine injections in mares: effect of prostaglandin E2. *Theriogenology*. 49:258.

Gastal EL, Gastal MO, Wiltbank MC, Ginther OJ. 1999. Follicle deviation and intrafollicular and systemic estradiol concentrations in mares. *Biol Reprod*. 61:31–39.

Gastal EL, Gastal MO, Nogueira GP, Bergfelt DR, Ginther OJ. 2000. Temporal interrelationships among luteolysis, FSH and LH concentrations and follicle deviation in mares. *Theriogenology*. 53:925-940.

Gastal EL, Gastal MO, Ginther OJ. 2006. Serrated granulosa and other discrete ultrasound indicators of impending ovulation in mares. *J Equine Vet Sci*. 26(2):67-73.

Ginther OJ. 1983a. Fixation and orientation of the early equine conceptus. Abstract. *Theriogenology*. 19(4):613-623.

Ginther OJ. 1983b. Mobility of the early equine conceptus. Abstract. *Theriogenology*. 19(4):603-611.

Ginther OJ, Bergfelt DR, Leith GS, Scraba ST. 1985. Embryonic loss in mares: incidence and ultrasonic morphology. *Theriogenology*. 24(1):73-86.

Ginther OJ. 1992. *Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects*, 2nd ed., Cross Plains, WI, Equiservices Publishing. p. 141-150.

Ginther OJ. 1995. *Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Horses, Book 2*, Cross Plains, WI, Equiservices Publishing. p. 23-140.

Ginther OJ. 1998. Equine pregnancy: physical interactions between the uterus and conceptus. *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*. 44:73-104.

Ginther OJ. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim Reprod Sci*. 60-61:61-79.

Ginther OJ, Beg MA, Gastal MO, Gastal EL. 2004. Follicle dynamics and selection in mares. *Anim Reprod*. 1(1):45-63.

Ginther OJ, Beg MA, Gastal EL. 2005. Systemic concentrations of hormones during the development of follicular waves in mares and women: a comparative study. *Reproduction*. 130:379-388.

Griffin PG and Ginther OJ. 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J Anim Sci*. 70:953-972.

Griffin PG and Ginther OJ. 1993. Effects of the embryo on uterine morphology and function in mares. *Anim Reprod Sci*. 31:311–329.

Kanitz W, Schneider F, Hoppen, H-O, Unger C, Nürnberg G, Becker F. 2007. Pregnancy rates, LH and progesterone concentrations in mares treated with a GnRH agonist. *Anim Reprod Sci*. 97:55–62.

López JJ y Rodríguez CA. 2005. Dinámica ovárica y niveles de progesterona durante el ciclo estral de yeguas criollas colombianas en la Sabana de Bogotá-Colombia. [Tesis de Pregrado]. [Bogotá, Colombia] Universidad Nacional de Colombia.

Madill S. 2002. Reproductive considerations: mare and stallion. *Vet Clin Equine*. 18: 591–619.

Marković D, Pavlović M, Pavlović V. 2003. Seasonality, folliculogenesis and luteogenesis in mare ovaries. *Medicine and Biology*. 10(3): 120 – 126.

McDowell KJ, Sharp DC, Grubaugh WR, Thatcher WW, Wilcox CJ. 1998. Restricted conceptus mobility results in failure of pregnancy maintenance. *Biol Reprod*. 39:340–348.

Meyers PJ, Bonnett BN, McKee SL. 1991. Quantifying the occurrence of early embryonic mortality on three equine breeding farms. *Can Vet J*. 32:665-672.

Morel MCGD, Newcombe JR, Swindlehursta JC. 2005. The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare. *Theriogenology*. 63:2482–2493.

Nagy P, Guillaume D, Daels P. 2000. Seasonality in mares. *Anim Reprod Sci* 60–61:245–262.

Nett TM, Pickett BW, Seidel GE, Voss JL. 1976. Levels of luteinizing hormone and progesterone during the estrous cycle and early pregnancy in mares. *Biol Reprod.* 14:412-415.

Newcombe JR. 1996. Ultrasonography of ovulation and development of the corpus luteum in the mare. *Equine Vet. Ed* 8(1):47-58.

Papa FO, Lopes MD, Alvarenga MA, Meira C, Luvizotto MCR, Langoni H, Ribeiro EF, Azedo AE, Bomfim AC. 1998. Early embryonic death in mares: clinical and hormonal aspects. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 35(4):170-173.

Pryor P and Tibary A. 2005. Management of Estrus in the Performance Mare. *Clin Tech Equine Pract.* 4:197-209.

Pycock JF and Dieleman S. 1995. Correlation of plasma concentrations of progesterone and estradiol with ultrasound characteristics of the Uterus and duration of estrous behavior in the cycling mare. *Reprod Dom Anim.* 30:224.

Samper JC. 1997. Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to timed ovulation in mares. *Proceedings of the 43rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners.* 43:189-191.

Samper JC and Pycock JF. 2007. The normal female reproductive system. The normal uterus in estrus. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. *Current Therapy in Equine Reproduction.* Missouri: Saunders Elsevier. p. 32-35.

Sevinga M, Schukken YH, Hesselink JW, Jonker FH. 1999. Relationship between ultrasonic characteristics of the corpus luteum, plasma progesterone concentration and early pregnancy diagnosis in Friesian mares. *Theriogenology.* 52:585-592.

Sharp DC. 2000. The early fetal life of the equine conceptus. *Anim Reprod Sci.* 60–61:679–689.

Silva LA, Gastal EL, Beg MA, Ginther OJ. 2005. Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. *Biol Reprod.* 72:755–761.

Slusher. 2003. Oklahoma State University. [Internet]. Disponible en: <http://www.OklahomaStateUniversity.com>.

Spencer TE, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim Reprod Sci.* 82–83:537–550.

Stout TAE and Allen WR. 2001. Role of prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus. *Reproduction.* 121:771–775.

Vanderwall DK, Squires EL, Brinsko SP, McCue PM. 2000. Diagnosis and management of abnormal embryonic development characterized by formation of an embryonic vesicle without an embryo in mares. *J Am Vet Med Assoc.* 217(1):58-63.

Vanderwall DK and Newcombe JR. 2007. The pregnant mare: diagnosis and management. Early embryonic loss. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. *Current Therapy in Equine Reproduction.* Missouri: Saunders Elsevier. p.374.

2. Estudio del intervalo inter-ovulatorio en yeguas criollas colombianas

2.1 Resumen

Con el objetivo de estimar parámetros reproductivos de referencia en yeguas Criollas colombianas (CC), se emplearon 30 yeguas a las que se les realizó seguimiento de dos ciclos estrales (CE). La duración del CE fue $21,5 \pm 1,8$ días (promedio \pm DE), la cual fue similar en el 40% de las yeguas en los dos CE. En el 60% restante la duración entre los dos CE tuvo una diferencia entre 1 a 7 días. La tasa de crecimiento diario del folículo dominante (FD) fue de $1,62 \pm 0,4$ mm y la del folículo subordinado (FS) de $0,65 \pm 0,4$ mm. La desviación folicular se presentó el día $17,2 \pm 3,0$ del CE. El tamaño máximo del FD fue $44,3 \pm 4,8$ mm. En el 63% de los CE el FD se ubicó en el ovario derecho y en el 37% en el izquierdo. En el 85% de los CE ocurrió primero el edema uterino y después los signos de celo. El grado de edema disminuyó antes de la ovulación en 86,6% de los CE. La duración del estro fue $5,9 \pm 1,8$ días. Hasta 48 horas postovulación se presentaron signos de celo en el 73,3% de los CE y en el 26,6% ningún signo de celo. Según los valores obtenidos, aunque los parámetros reproductivos son similares a los descritos para otras razas de equinos en países diferentes a Colombia, hay algunas diferencias que deben tenerse en cuenta en las prácticas clínicas de rutina en la reproducción de las yeguas CC.

Palabras clave: ciclo estral, crecimiento folicular, edema uterino, yeguas criollas colombianas.

Abstract

The aim of this study was to contribute in the generation of reference values in Colombian Criollo (CC) mares, 30 animals were used to characterize their estrous cycles (EC). The EC duration was $21,5 \pm 1,8$ days (mean \pm SD). Forty percent of mares had the same

duration in days for the two cycles observed. In the remaining 60% the difference in EC duration ranged from 1 to 7 days. The daily growth rate of the dominant follicle (DF) was $1,62 \pm 0,4$ mm and for the subordinate follicle (SF) was $0,65 \pm 0,4$ mm. Follicular deviation occurred on day $17,2 \pm 3,0$. The maximum size of DF was $44,3 \pm 4,8$ mm. In 63% of the observed EC, the DF was located in the right ovary and 37% in the left. In 85% of the studied EC, uterine edema preceded heat signs. The degree of edema decreased before ovulation in 86,6% of the studied EC. The average estrus duration was $5,9 \pm 1,8$ days. Most mares (73,3%) maintained heat signs up to 48 hours after ovulation. The values obtained show that some of the reproductive parameters in CC mares are somewhat different from those described for different breeds in other countries; they should be taken into account in routine clinical practice in the reproduction of the CC mares.

Keywords: estrous cycle, follicular growth, uterine edema, Colombian criollo mares.

2.2 Introducción

El ciclo estral (CE) se define como el intervalo transcurrido entre una ovulación y la siguiente. Su duración en la especie equina es aproximadamente de 21 días y presenta dos fases, la folicular y la luteal (Pryor y Tibary 2005; Daels y Hughes 1993).

Los cambios fisiológicos a través del CE son controlados por hormonas producidas por el hipotálamo, la hipófisis, la glándula pineal, los ovarios y el útero. La fase folicular tiene una duración muy variable en la especie equina, el comportamiento de estro dura de 5 a 7 días (rango 2 - 12 días), lo cual depende de la yegua, de la raza y del fotoperiodo (Ginther 1992). También puede ser más extenso en yeguas de mayor edad como resultado de una fase folicular prolongada, debido probablemente a la presencia de folículos de menor diámetro (Madiill 2002). La fase luteal, dura de 14 a 16 días y hay predominancia del cuerpo lúteo (Pryor y Tibary 2005). Durante el diestro se incrementa el tono uterino, el cérvix se cierra y no hay receptividad hacia el macho (Daels y Hughes 1993).

En las yeguas, la onda de crecimiento folicular en los ovarios se desarrolla durante la segunda mitad del CE y generalmente solo un folículo termina en ovulación (Donadeu y Ginther 2002; Ginther et al. 2001). La llamada onda emergente se refiere al primer grupo

de folículos detectados por ultrasonografía, con un tamaño promedio de 6 mm (Bergfelt y Adams 2007; Ginther 2000; Gastal et al. 1997). Los folículos tienen una fase común de desarrollo folicular (2 - 3mm/día) y el futuro FD tiene en promedio un crecimiento mayor de 3 mm hasta el inicio de la desviación folicular (Donadeu y Ginther 2002; Ginther et al. 2001; Ginther 1995), momento en el cual la diferencia entre la frecuencia de crecimiento del folículo dominante (FD) y la del crecimiento de los folículos subordinados (FS) es notoria (Gastal et al. 1997). De esta manera ocurre la selección folicular. Así, un folículo se transforma en FD o preovulatorio (Donadeu y Ginther 2002; Ginther 2000) y disminuye el crecimiento de los FS. La selección folicular ocurre al final de la fase común de crecimiento; el FD crece a una tasa continua y el FS sufre regresión o crece temporalmente a una velocidad más lenta y posteriormente disminuye su crecimiento; este evento se conoce como desviación folicular (Ginther et al. 2001). Al ganar ventaja en tamaño, el folículo más grande desarrolla la capacidad de suprimir las concentraciones circulantes de la hormona folículo estimulante (FSH) y de utilizar niveles basales de FSH para su desarrollo (Ginther et al. 2004). El folículo más grande tiene mayor área de superficie y por lo tanto, más receptores para la FSH, lo cual es importante para que pueda continuar su crecimiento con bajos niveles sanguíneos de FSH y ocurra la desviación folicular. La disminución en la liberación de FSH está asociada con la desviación y después de ésta, su concentración continúa disminuyendo durante varios días después (Ginther 2000). Las hormonas del fluido folicular son importantes en el control de la desviación folicular; en unas yeguas, se encontró que la concentración de estradiol (E) aumenta en el folículo más grande antes del comienzo de la desviación folicular, lo cual se asoció con cambios en la textura de la pared folicular (Donadeu y Ginther 2002; Ginther 2000). Se cree que la inhibina puede causar un descenso en los niveles de FSH en la sangre, en efecto se halló un aumento de FSH en el plasma posterior a la administración de un antisuero contra la inhibina (Ginther 2000). El diámetro promedio en el momento de la desviación folicular es de 22 mm para el folículo de mayor tamaño y 19 mm para el segundo folículo más grande; así mismo el comienzo de la desviación se presenta 6,2 días después de la emergencia folicular (Ginther 2000; Gastal et al. 1999). Generalmente la ovulación en la yegua puede darse a partir de los 35mm (Ginther 1992). El diámetro máximo del folículo ovulatorio está entre 40 a 45 mm en yeguas Pura Sangre Inglesa (PSI) y Cuarto de milla; aunque esto puede tener grandes variaciones según las condiciones medioambientales, la raza de los animales y cuando se presentan ovulaciones múltiples (Bergfelt y Adams 2007).

La principal característica observada en el endometrio durante el CE de la yegua, es la presencia de edema durante el estro (Samper 1997). El grado de edema endometrial puede ser cuantificado utilizando un sistema de clasificación subjetivo en donde se evalúa la cantidad de edema uterino y la visibilidad de los pliegues endometriales. La presencia de edema uterino es el indicador más confiable de celo en la yegua normal, aún si la yegua no se muestra receptiva al macho. La ausencia de edema uterino con un cérvix cerrado es característica del diestro (Samper y Pycock 2007).

Dada la amplia variación de las condiciones climáticas en el trópico colombiano, se hace necesario establecer los valores de referencia de importancia clínica, en yeguas CC ubicadas en los diversos pisos térmicos colombianos. Aunque se han realizado estudios sobre el CE en yeguas CC ubicadas en Bogotá, no hay reportes escritos acerca de las características del CE en yeguas CC ubicadas en el piso térmico templado o medio de Colombia, que comprende todas las áreas ubicadas entre los 1.000 y 2.000 msnm y temperaturas que oscilan entre los 17 y 24°C (Ideam 2001). La comprensión de los eventos fisiológicos del ciclo reproductivo de la yegua permite conocer y definir las posibles limitantes de su capacidad reproductiva y aplicar correctivos en la práctica de rutina de la clínica de la reproducción con el fin de mejorar y aumentar la eficiencia reproductiva de cada animal y por ende, de los criaderos equinos, y así fomentar la conservación y mejoramiento de las razas de caballos de importancia social o económica. Dado que la población de CC en Colombia es importante, es pertinente investigar las características del CE de la yegua CC, para facilitar la expresión de su máxima eficiencia reproductiva en los criaderos y conocer parámetros de referencia para futuros estudios que contribuyan a la preservación de la raza de caballos CC. Así mismo, es necesario establecer los valores de referencia correspondientes bajo las condiciones del trópico colombiano en los diferentes pisos térmicos, en virtud de la variación climática inherente a ellos.

En la literatura disponible, no hay reportes acerca de la duración del estro, del CE, del crecimiento folicular y de las variaciones en el grado de edema uterino en yeguas CC residentes en las zonas geográficas correspondientes a los pisos térmicos templado y cálido del trópico colombiano. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la duración del CE y del estro, así como conocer el crecimiento de los folículos ováricos y

las variaciones del grado de edema uterino en función del tiempo, durante dos CE, en yeguas CC ubicadas en el piso térmico templado del trópico colombiano.

2.3 Materiales y métodos

Se analizaron dos CE consecutivos por medio de observaciones directas, palpación transrectal y ultrasonografía en 30 yeguas de la raza CC ubicadas en diferentes zonas rurales del municipio de Pereira (Risaralda), a una altura de 1.411 metros sobre el nivel del mar (msnm), 4°49' de latitud norte y 75°42' de longitud oeste. Las condiciones medioambientales son: temperatura promedio de 21,8°C, humedad relativa 75%, precipitación media de 2.210 mm/año y promedio de brillo solar diario de 13 horas (Ideam 2005). Lo anterior corresponde al llamado piso térmico templado colombiano (Ideam 2001). El trabajo se llevó a cabo desde finales del mes de mayo del 2008 hasta mayo del 2009; según la disponibilidad de animales.

La edad de los animales osciló entre 4 y 14 años, distribuidos así: entre los 4 a 7 años (n=17), de 8 a 11 años (n=10) y de 12 a 14 años (n=3). El peso corporal estuvo entre 320 y 400 kg y con una buena condición (en promedio 6/9). Todos los animales permanecían estabulados, con una dieta de pasto de corte King grass (*Pennisetum purpureum*), el cual se suministró a voluntad, 4 kg de concentrado al día (12-15% nivel de proteína) y sal a voluntad. Las yeguas incluidas en el estudio se hallaban en buenas condiciones sanitarias, con el plan de vermifugaciones y vacunaciones vigente (Tétano, Influenza y Encefalitis equina venezolana) y sin ninguna anormalidad reproductiva, lo cual fue determinado por medio de la inspección visual de los órganos reproductivos externos, palpación transrectal y ultrasonografía. En cada criadero se utilizó un macho entero como detector del estro.

2.3.1 Palpación rectal y ultrasonografía

La evaluación secuencial del tracto reproductivo por ultrasonido se realizó con un ecógrafo marca Honda electronics modelo HS 1500V (Aichi, Japón), equipado con un transductor rectal lineal multifrecuencia de 10, 7,5 y 5 MHz, modelo HLV-375M y con capacidad de almacenamiento de 60 imágenes. En este estudio el seguimiento folicular, la ovulación y el grado de edema uterino se llevó a cabo con 7,5 Mhz para obtener una

mayor resolución de las imágenes estudiadas. Las mediciones ultrasonográficas se realizaron por un solo operario durante todo el estudio.

Para este estudio, el día cero del CE correspondió al de la ovulación; el cual se determinó con un seguimiento ultrasonográfico previo al grupo de yeguas seleccionadas, a partir de la detección de un folículo mayor de 35 mm de diámetro hasta el día que se encontró un cuerpo lúteo en su lugar. A partir de este día, se comenzó un seguimiento ecográfico diariamente de cada yegua para determinar la duración del intervalo entre ovulaciones, evaluar si había presencia de una o más ondas foliculares, identificar el número de folículos en cada ovario, calcular el diámetro folicular y su tasa de crecimiento, identificar FD y el FS más grande y establecer el momento de la desviación folicular, determinar el diámetro del FD a la ovulación y la ubicación del folículo ovulatorio. La medición del diámetro folicular se llevó a cabo calculando el promedio de dos medidas perpendiculares del antro de cada folículo. El día de la desviación entre el FD y el FS se definió como el día en el cual se encontró la mayor diferencia entre sus tasas de crecimiento (Ginther 2000).

Así mismo se evaluó por ultrasonido el grado de edema uterino durante la fase folicular y luteal del CE; para cuantificar estos datos se utilizó un sistema de puntuación subjetiva para edema endometrial (Samper y Pycock 2007; Tabla 2-1). El comportamiento característico del estro se observó una vez al día, en promedio durante dos minutos, durante la fase folicular hasta 48 horas después de haber ocurrido la ovulación por medio del recelaje (detección del estro) individual de cada hembra con un macho entero y estos datos se cuantificaron con un sistema de puntuación subjetivo para el comportamiento de estro (Pryor y Tibary 2005; Tabla 2-2); esta observación fue llevada a cabo por una sola persona al acercar el caballo a la pesebrera de la yegua y en cada criadero se utilizaron dos caballos receladores diferentes, los cuales se alternaban para no generar problemas en el comportamiento del reproductor; sin embargo siempre se utilizó el mismo caballo para una misma yegua.

Tabla 2-1: Sistema de puntuación subjetiva para edema endometrial en la yegua (Tomado de Samper y Pycock 2007).

| Puntuación | Descripción |
|-------------------|---|
| 0 | Sin edema, ecotextura homogénea |
| 1 | Bajo nivel de edema uterino detectable |
| 2 | Moderada cantidad de edema, principalmente en cuerpo uterino |
| 3 | Edema obvio a través de todo el útero |
| 4 | Máxima cantidad normal de edema en útero, a veces poca cantidad de fluido libre en lumen, mayor edema en cuerpo uterino |
| 5 | Edema uterino anormal , irregular y desorganizado |

Tabla 2-2: Sistema de puntuación subjetiva para detección de estro en la yegua (Tomado de Pryor y Tibary 2005).

| Puntaje | Comportamiento |
|----------------|---|
| +3 | Yegua permanece quieta y levanta la cola |
| +1 | Micción frecuente en presencia de macho |
| +1 | Eversión del clítoris (guiño vulvar) |
| +1 | Cola levantada |
| 0 | Yegua permanece quieta sin levantar la cola |
| -1 | Agresividad con el macho, patadas |
| -1 | Movimiento de la cola |
| -1 | Orejas hacia atrás |
| -1 | Yegua en movimiento |
| -3 | Yegua no permanece quieta para ser montada |

2.3.2. Análisis estadístico

El análisis de los datos se hizo por estadística descriptiva con valores de promedio y desviación estándar (DE) para todos los parámetros a evaluar; de este modo se determinó la duración del CE, la cantidad de folículos encontrados en cada ovario, el diámetro del FS y del FD, el diámetro y la ubicación del FD a la ovulación, el grado de edema uterino y la duración y signos del estro. La duración del CE se calculó tomando el promedio de todos los valores en cada CE; y los otros parámetros fueron determinados

comparando los promedios día por día. La tasa de crecimiento del FD y del FS se calculó como el diámetro folicular máximo alcanzado por el folículo menos el diámetro folicular inicial el día de su detección dividido por el intervalo en días, desde el inicio del seguimiento del folículo hasta la ovulación del mismo (Henao y Trujillo 2003). Se realizó análisis de varianza en los datos encontrados en el primer y segundo CE para determinar posibles diferencias entre ellos, asumiendo una distribución normal de los datos.

En este estudio descriptivo del intervalo interovulatorio el objetivo es evaluar si las yeguas CC se comportan de manera similar a las investigaciones descritas en la literatura.

2.4 Resultados

2.4.1 Seguimiento del ciclo estral

Dado que no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los dos CE analizados, los resultados se presentan unificados. La duración del CE fue de $21,5 \pm 1,8$ días (promedio \pm DE) con un rango de 18 (3/56 CE) hasta 26 días (3/56 CE); en el 36% (20/56) de los casos el CE presentó una duración de 21 días (Figura 2-1). El 40% (12/30) de las yeguas analizadas tuvieron la misma duración en días durante los dos CE y se encontró una diferencia en la duración de los CE entre 1 a 5 días en las yeguas restantes (Figura 2-2). Se encontraron dos casos fuera de los parámetros normales; una yegua que presentó una duración de 20 y 16 días para el primero y segundo CE y otra yegua con duración de 26 y 33 días para el primero y segundo CE. Los datos de estos animales se excluyeron en el análisis del promedio de la duración del CE, para no sesgar los valores reportados de los rangos sin embargo estos CE tuvieron un desarrollo y ovulación normales por lo tanto se incluyen dentro de los resultados.

Figura 2-1: Porcentaje de animales con la duración del ciclo estral correspondiente en yeguas criollas colombianas (n=28).

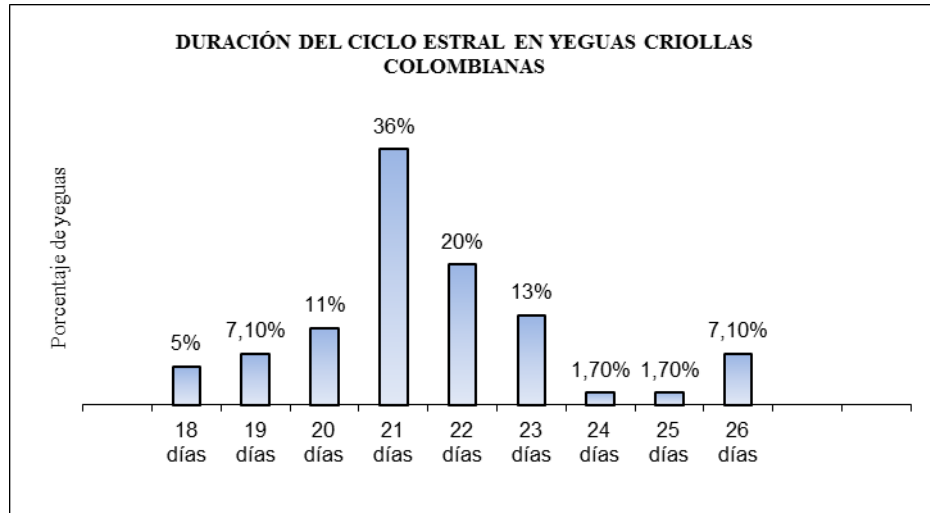
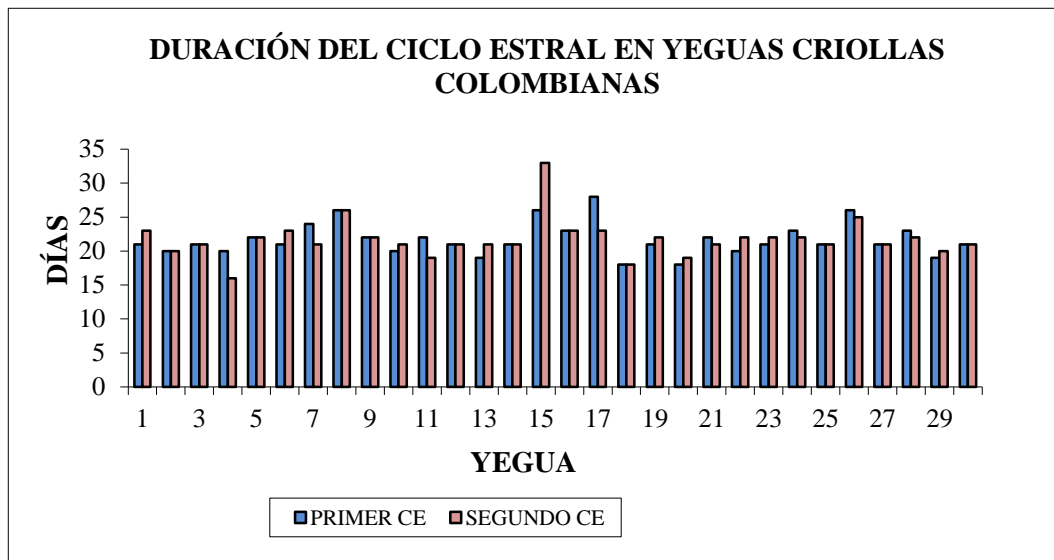


Figura 2-2: Valores promedio de la duración en días del primero y segundo ciclos estrales de cada yegua criolla colombiana (n=30).



2.4.2 Dinámica folicular

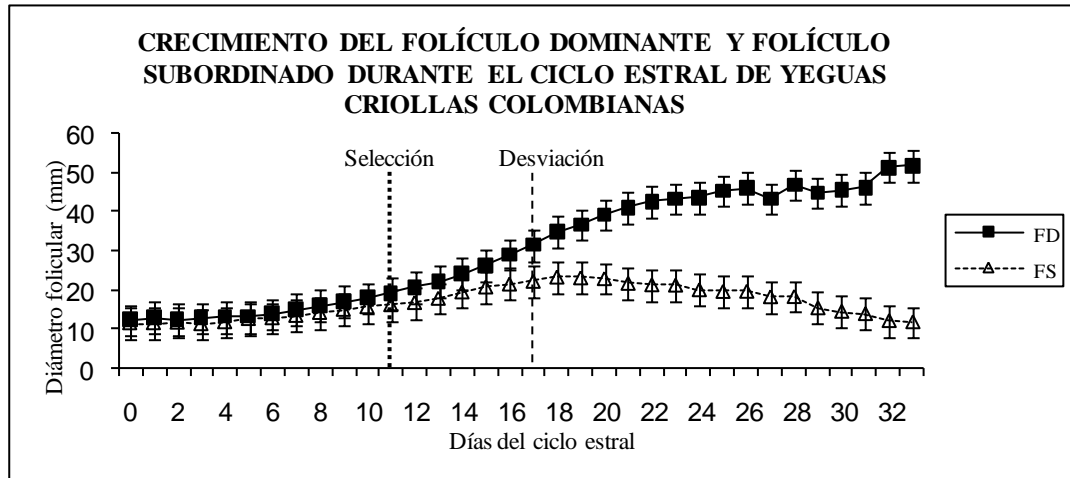
Se identificó la cantidad de folículos encontrados en cada ovario desde el día 0 del estudio hasta cuando ocurrió la siguiente ovulación. El día cero del ciclo se encontraron

2,4 ± 1,7 folículos en el ovario derecho con un rango de 0 a 8 folículos y en el izquierdo 2,3 ± 1,2 folículos, con un rango de 0 a 5. El promedio de la cantidad de folículos hallados durante todo el CE fue de 3,17 ± 0,5 folículos (rango: 2,3 – 5) en el ovario derecho, 2,4 ± 0,7 folículos (rango: 1 – 3,3) en el ovario izquierdo y el promedio de la cantidad total de folículos encontrados en los dos ovarios fue de 5,6 ± 0,7 folículos (rango: 4 – 6,9).

La tasa de crecimiento diario del FD y del FS durante el CE de cada yegua se determinó con la fórmula descrita anteriormente en el análisis estadístico, teniendo en cuenta el diámetro inicial del folículo, el diámetro final alcanzado y los días de seguimiento del folículo (Henaó y Trujillo 2003). La tasa de crecimiento del FS osciló entre 0,01 y 1,97 mm/día, con un promedio de 0,65 ± 0,4 mm/día. El promedio del tamaño del FS alcanzado durante todo el ciclo fue de 16,6 ± 4,0 mm y su tamaño estuvo en un rango de 11,1 y 23,1 mm; el diámetro máximo del FS se encontró el día 17,3 ± 3,0 (rango 10 - 23 días) y fue de 25,5 ± 4,7 con un rango de 14,5 – 35,6 mm. El promedio de la tasa de crecimiento diario del FD fue de 1,62 ± 0,4 mm, con un rango de 0,5 y 2,8 mm por día. En el 55% (33/60) de los CE analizados el FD y el FS se encontraban ubicados en el mismo ovario. El FS se ubicó en un 68,3% (41/60 CE) en el ovario derecho y 31,6% (19/60) en el ovario izquierdo, mientras que el 63,3% (38/60) y el 36,6% (22/60) de FD se ubicaron en el ovario derecho y en el ovario izquierdo, respectivamente.

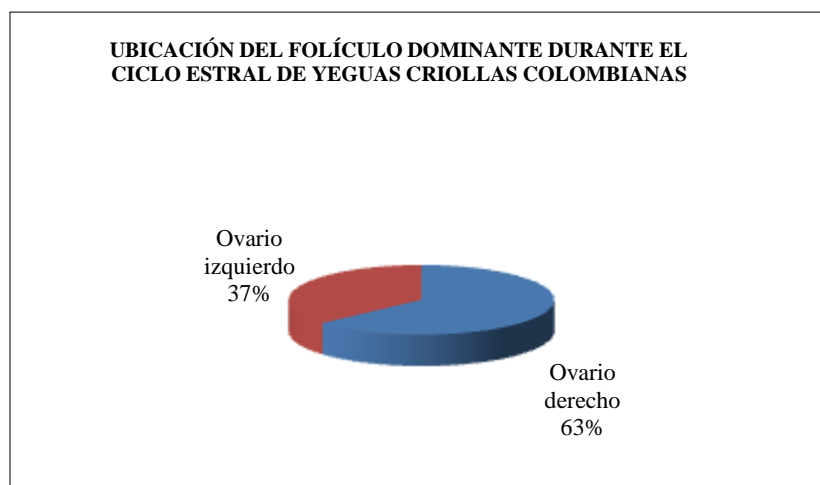
La selección folicular inició en promedio el día 11,1 ± 2,9 postovulación cuando se encontró una mayor diferencia en la tasa de crecimiento folicular, con una ventaja de crecimiento de 1,0 mm del FD comparado con el FS; en ese momento el diámetro promedio fue de 18,9 ± 7,4 mm para el folículo de mayor tamaño y 15,9 ± 5,3 mm para el segundo folículo más grande. A partir de ese momento, el FD tuvo una velocidad de crecimiento diaria mayor que el FS y en promedio hacia el día 17,2 ± 3,0 (rango 10 a 23 días) ocurrió la desviación folicular cuando el FD continuó creciendo (2,5 mm/día) y el FS comenzó a disminuir su tasa de crecimiento (0,7 mm/día). Se obtuvieron valores promedio ± DE de 31,3 ± 7,0 mm y 22,0 ± 5,3 mm para el FD y el FS, respectivamente. Después de la desviación folicular, el FD continuó aumentando su tasa de crecimiento hasta el momento de la ovulación (Figura 2-3). La velocidad de crecimiento del FD disminuyó en promedio 3 días antes de la ovulación y de manera más notoria el día anterior de la ovulación (día -1) cuando la tasa de crecimiento fue de 1,84 ± 1,8 mm/día.

Figura 2-3: Curva de crecimiento del folículo dominante y del folículo subordinado en el ciclo estral de yeguas criollas colombianas (n=30) y día promedio de ocurrencia de la selección y desviación folicular.



Todos los animales analizados presentaron ovulación durante los dos CE estudiados. El promedio del tamaño folicular a la ovulación fue de $44,3 \pm 4,8$ mm; con un rango de 34,9 mm y 53,0 mm. La ovulación tuvo lugar $3,5 \pm 2,2$ días después que el FD alcanzara los 35 mm de diámetro. El 63,3% (19/30) de FD o folículos ovulatorios se ubicaron en el ovario derecho y el 36,6% (11/30) en el izquierdo (Figura 2-4); en el 60% (18/30) el FD se ubicó en el mismo ovario durante los dos CE.

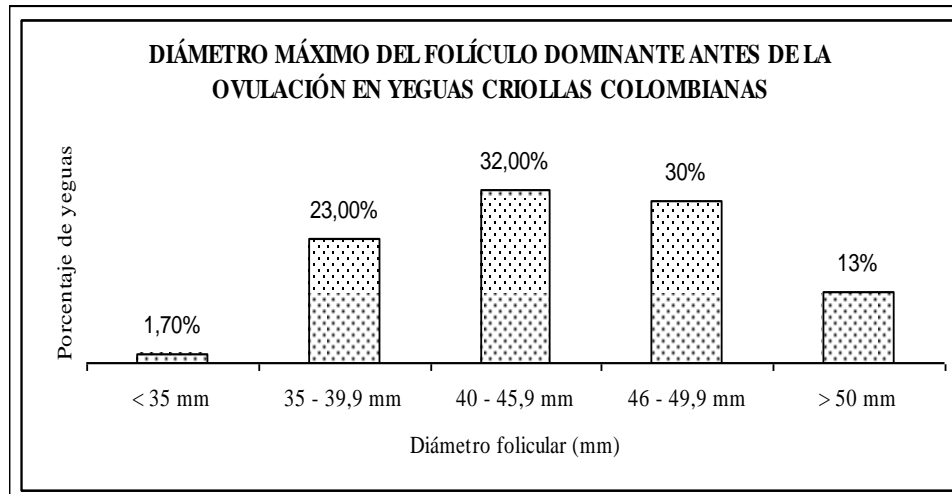
Figura 2-4: Porcentaje de ubicación del folículo dominante en el ciclo estral de yeguas criollas colombianas (n=30).



El tamaño promedio del folículo ovulatorio en el ovario derecho fue de $44,04 \pm 4,9$ mm (34,9 – 53 mm) y en el ovario izquierdo de $44,9 \pm 4,6$ mm (36,2 – 51,8) ($p > 0,05$). El mayor porcentaje de las yeguas (32%) ovularon con un tamaño del FD comprendido entre 40 y 45,9 mm, el 30% entre 46 y 49,9 mm, el 23% entre 35 a 39,9 mm y el 13% con un FD mayor de 50 mm; solamente una yegua ovuló con un folículo menor de 35 mm (Figura 2-5). Se encontró un solo caso de ovulación doble durante un CE en una yegua, con la presencia de un FD en el ovario derecho de 38,5 mm de diámetro, el cual tuvo una tasa de crecimiento de 1,4 mm/día y un FD en el ovario izquierdo de 45,0 mm de diámetro con una tasa de crecimiento de 1,8 mm/día; estos folículos ovularon con un día de diferencia; el FS se encontró en el ovario derecho y su tasa de crecimiento fue de 0,4 mm/día.

En el caso particular del segundo CE de una yegua con 16 días de duración, se encontró una tasa de crecimiento mayor del FD (2,38 mm/día) comparada con la del FD del primer CE (1,58 mm/día), el cual fue de 20 días de duración; y la velocidad de crecimiento del FS fue menor (0,73 mm/día) en el segundo CE que en el primer CE (1,0 mm/día). La divergencia ocurrió más temprano en el CE de corta duración (día 11 vs. día 17) y el tamaño folicular unas horas antes de la ovulación fue de 39,3 y 46,8 mm en el primero y segundo CE, respectivamente. En el otro animal que presentó en el segundo CE una duración de 33 días, se encontró una mayor tasa de crecimiento del FD (1,93 mm/día) comparada con la del FD del primer CE (1,64 mm/día) de 26 días de duración; en este caso la velocidad de crecimiento del FS fue menor (0,2 mm/día) en el segundo CE que en el primer CE (0,4 mm/día), la divergencia folicular fue más tardía en el segundo CE que en el primer CE (día 23 vs. día 20) y el tamaño folicular unas horas antes de la ovulación fue 46,0 y 51,7 mm en el primero y segundo CE respectivamente.

Figura 2-5: Porcentaje del diámetro máximo alcanzado por el folículo dominante antes de la ovulación durante los dos ciclos estrales estudiados en yeguas criollas colombianas (n=30).



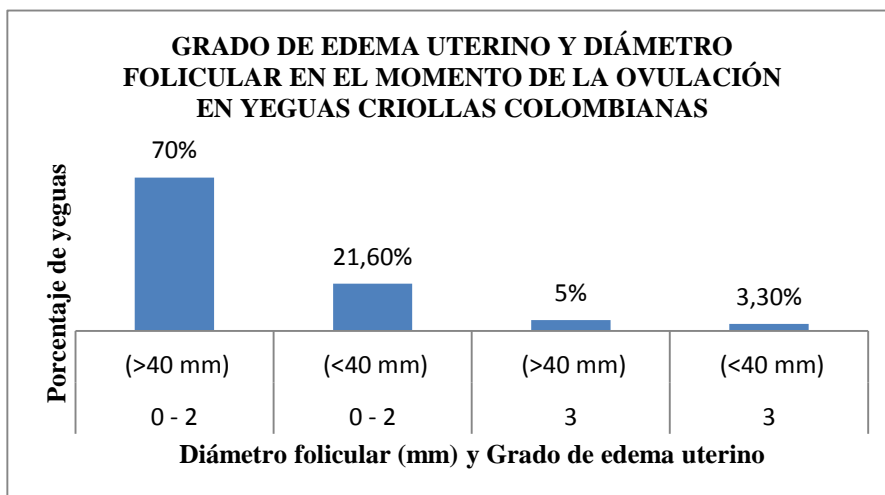
2.4.3 Grado de edema uterino

El grado de edema uterino aumentó progresivamente durante el periodo final del CE; el día cero del CE se encontraron valores que variaron en un rango de 0 a 2 y el último día del ciclo de 0 a 3. Entre el día cero y el día 13 del CE el grado de edema uterino fue menor de 1, a partir de ese momento aumentó hasta alcanzar un grado máximo de 3 y comenzó a disminuir gradualmente a medida que se aproximaba la ovulación. En el 83,3% (50/60) de los CE analizados se alcanzó un nivel máximo de edema uterino grado 3 y solamente en el 5% (3/60), un grado de edema 4. El edema uterino fue visualizado en promedio $6,9 \pm 1,9$ días antes de la ovulación. El grado máximo de edema fue detectado $3,7 \pm 1,5$ días antes de la ovulación y en promedio disminuyó a los $1,9 \pm 1,0$ días antes de la ovulación. La presencia de edema precedió el comportamiento de estro en promedio $2,6 \pm 1,8$ días. En el 85% (51/60) de los CE la detección de edema uterino antecedió a la existencia de los signos de celo.

El grado de edema disminuyó antes de la ovulación en el 86,6% (56/60) de los CE. En el 70% (42/60) de los CE se presentó un edema con valores entre 0 a 2 con folículos > 40 mm en el momento de la ovulación. En 21,6% (13/60) de los CE la ovulación ocurrió con folículos < 40 mm y edema 0 a 2, en el 5% (3/60) con folículos > 40 mm, grado de edema

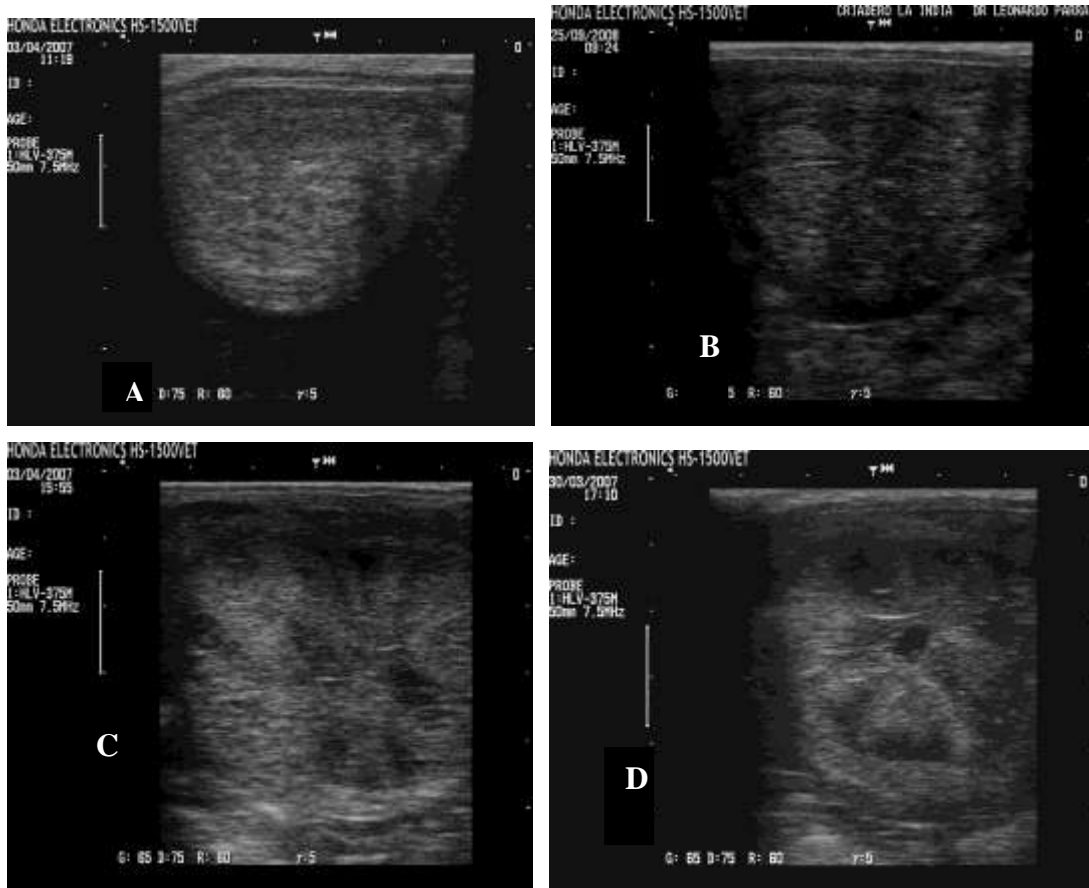
3 y en 3,3% (2/60) al momento de la ovulación se presentó grado de edema 3 con un folículo < de 40 mm (Figura 2-6).

Figura 2-6: Grado de edema uterino y diámetro folicular alcanzado en el momento de la ovulación durante los dos ciclos estrales estudiados en yeguas criollas colombianas (n=30).



En el 50% (30/60) de los CE se encontró un edema uterino grado 1 el día previo a la ovulación y en el 35% (21/60) un edema uterino grado 2. Una yegua no presentó ningún grado de edema durante el primer CE, el cual fue de 18 días de duración, con evidencia de signos de celo solamente el día anterior y el día siguiente a la ovulación, que ocurrió con un folículo de 36,8 mm de diámetro; aunque el siguiente CE fue de la misma duración, sí se encontró edema, signos de celo más evidentes y un folículo de mayor diámetro (44,2 mm). En la figura 2-7 se observa la imagen ultrasonográfica de los diferentes grados de edema uterino encontrados durante el CE. En los CE analizados no se encontraron edemas patológicos.

Figura 2-7: Imagen ultrasonográfica de edema uterino grado 0 (A), grado 1 (B), grado 2 (C) y grado 3 (D) durante diferentes momentos del ciclo estral. El grado 0 se observa en el diestro como una imagen homogénea. En los estadios considerados como grados 1, 2 y 3 se pueden observar los pliegues endometriales, que son más evidentes en el grado 3.



2.4.4 Duración del estro

La duración del estro, determinada por la presencia de los signos de celo, fue de $5,9 \pm 1,8$ días con un rango de 1 a 11 días. Los signos de celo se evidenciaron $4,3 \pm 1,9$ días antes de la ovulación, cuando el FD alcanzó un tamaño de $36,5 \pm 3,6$ mm. En el 43,3% (26/60) de los CE los signos de estro se hicieron evidentes simultáneamente a la detección de un grado de edema 2 y en el 28,3% (17/60) cuando el edema era grado 1. En el 96,6% y el 73,3% de los CE se presentaron signos de celo hasta 24 y 48 horas postovulación, respectivamente.

Dentro de los signos característicos del celo, el observado con mayor frecuencia fue la eversión rítmica del clítoris (86,6%) y el levantamiento de la cola (86,6%), seguido por la micción frecuente (76,6%) y quietud de la yegua con levantamiento de la cola (70%); en un 30% de los CE se observó que la yegua permaneció quieta sin levantar la cola. En los casos cuando la detección del celo por parte del macho se consideró negativa, el comportamiento más repetido por los animales fue el del movimiento de la cola (8,3%), el corporal (8,3%) y la posición de las orejas hacia atrás (8,3%); en una ocasión se observó agresividad ante el macho.

2.5 Discusión

La comprensión de los eventos fisiológicos del ciclo reproductivo de la yegua CC permite conocer y definir el comportamiento y las posibles limitantes de su capacidad reproductiva y aplicar prácticas de rutina con el fin de mejorar y aumentar la eficiencia reproductiva de cada animal y de los criaderos equinos, y así fomentar la conservación y mejoramiento de esta raza.

Se ha descrito que las yeguas presentan CE dentro de los rangos normales en períodos de menor duración del brillo solar, sin que esto afecte el intervalo inter-estro o la ovulación (Boeta et al. 2006). En el presente estudio se encontró una duración del CE de $21,5 \pm 1,8$ días en promedio, (rango 18 – 26 días) lo cual coincide con lo reportado en la literatura (Pryor y Tibary 2005; Ginther 1995; Daels y Hughes 1993). En el altiplano de Bogotá, Colombia, ubicado a 2.638 msnm (trópico alto) se encontró, en un grupo de yeguas CC, una duración promedio del CE de $20,5 \pm 1,43$ días (López y Rodríguez 2005). Lo anterior representa ciclos de menor duración comparados con los reportes de la literatura para otros genotipos y zonas geográficas. En casos de estrés nutricional, cuando la calidad y la cantidad de alimento es inadecuada, las yeguas tienden a disminuir la actividad ovárica y presentar cierto grado de estacionalidad en el trópico (Samper 1997); aunque para determinar la influencia de la estacionalidad es necesario llevar a cabo estudios más precisos y exhaustivos que incluyan perfiles hormonales, dinámica folicular y análisis de las condiciones climáticas, temperatura, índice pluviométrico y altitud.

Dado que la duración del CE puede estar afectada por la duración del brillo solar (Marković et al. 2003), es importante en el futuro establecer con estudios más precisos si se presentan variaciones en diferentes épocas del año con cambios en la duración del brillo solar, en las condiciones propias del trópico, en los diferentes climas que corresponden a la variedad topográfica en Colombia. La variación en la duración del brillo solar en un día en Colombia en las diferentes épocas del año es de 30 minutos (Ideam 2005), aproximadamente, lo cual podría influir en las características fisiológicas y por ende, en la capacidad reproductiva de los equinos y en este contexto, es deseable que se lleven a cabo estudios que cubran, en lo posible uno o varios años para abarcar periodos de invierno o verano donde la intensidad lumínica pueda variar.

A pesar de no haber encontrado diferencias significativas en la duración de los dos CE analizados ($p > 0,05$), se encontraron casos en que las yeguas presentaron una variación más amplia en la duración del primer y segundo CE, como en una yegua que presentó el primer CE de 26 días de duración y el segundo de 33 días. El 40% de los animales tuvieron la misma duración durante el primer y segundo CE y el FD se ubicó en el mismo ovario durante los dos CE en el 60% de los animales; esto evidencia que conocer la dinámica folicular y la duración del CE en cada individuo puede mejorar la eficiencia reproductiva al disminuir la cantidad de inseminaciones durante el estro.

Aunque se presentaron dos casos fuera de los rangos normales reportados en la literatura, para la duración del intervalo interovulatorio, estos tuvieron un desarrollo y una ovulación posterior normal; lo cual indica que siempre existe un factor de individualidad, que puede hacer variar la duración y otros aspectos del CE de los rangos normales reportados. En estos casos es posible que la velocidad de crecimiento del FD afecte la duración del CE y también la disminución en la competencia ejercida por el FS, que permite un mayor crecimiento del FD (Ginther et al. 2004).

En el presente trabajo se halló que la tasa de crecimiento del FD en los dos CE evaluados fue $1,62 \pm 0,4$ mm/día y la del FS $0,65 \pm 0,4$ mm/día; la tasa de crecimiento del FD encontrada fue más baja comparada con la reportada en países estacionales donde se describe que los folículos tienen una fase de crecimiento paralela ($2-3$ mm/día) (Donadeu y Ginther 2002). Estos resultados más bajos en la tasa de crecimiento del FD y del FS pueden deberse a diferencias entre las razas de animales; los reportes de la

literatura son generalmente en yeguas de mayor tamaño que las CC que tienen un crecimiento folicular más acelerado (Gastal et al. 1999; Ginther 1995).

La desviación es caracterizada por el crecimiento continuo y preferencial de un folículo, el cual se convertirá en el folículo dominante, continuará creciendo y ovulará. En este estudio se pudo observar lo descrito en la literatura, al encontrar un crecimiento continuo y paralelo de dos folículos al principio del ciclo hasta un momento determinado cuando se encontró una mayor diferencia en la tasa de crecimiento folicular en uno de los folículos y una disminución en el crecimiento del otro folículo. En el presente estudio se encontró que hacia el día $17,2 \pm 3,0$ ocurrió la desviación folicular cuando el FD continuó creciendo ($2,5$ mm/día) y el FS comenzó a disminuir su tasa de crecimiento ($0,7$ mm/día). En la literatura existen reportes similares, donde se describe el inicio de la desviación folicular el día $15,7 \pm 0,5$ del CE (Ginther et al. 2007).

En yeguas CC ubicadas en Bogotá, Colombia (2.638 msnm, temperatura promedio de 13°C y humedad relativa de 72%) se encontró un promedio de diámetro del folículo ovulatorio de $43,7$ mm (rango de 39-52 mm), con una tasa de crecimiento de $2,52$ mm/día la cual disminuyó un día antes de la ovulación (2 mm/día) (López y Rodríguez 2005). En otro estudio con yeguas CC en Bogotá, se encontró un tamaño máximo preovulatorio de $41,34 \pm 2,14$ (rango de 39 a 52 mm) y una tasa de crecimiento de $2,04$ mm por día (Ramírez et al. 2010). En el presente estudio la tasa de crecimiento promedio en los dos CE fue más baja comparada con los estudios mencionados anteriormente ($1,61 \pm 0,4$ mm/día) y el tamaño promedio del folículo preovulatorio fue mayor ($44,3 \pm 4,8$ mm); estas diferencias en animales de la misma raza pueden deberse a factores extrínsecos como la ubicación geográfica, nutrición o edad. La velocidad de crecimiento del FD disminuyó el día antes de la ovulación (día -1) en los dos CE, lo que coincide con los reportes de Daels y Hughes (1993) y Ginther (1993).

El diámetro folicular es usado como una guía para predecir la ovulación en la yegua, pero el amplio rango en el diámetro de los folículos preovulatorios no permite hacer una predicción confiable del momento óptimo para realizar o permitir la inseminación. Sin embargo, en un estudio reciente se encontró que la mayoría de las yeguas (17/20) ovularon cuando los diámetros de los FD eran similares ($0 - 3$ mm de diferencia) en CE consecutivos (Cuervo-Arango y Newcombe 2008); en el presente estudio se reportó que

la mayoría de las yeguas (n=21) ovularon con una diferencia en los folículos entre 0 y 4 mm y una menor cantidad de ellas, con una diferencia mayor de 5 mm (n=9) entre los CE analizados; esta diferencia en el diámetro folicular entre CE fue observada en un rango de 0 a 5 días. Este hallazgo coincide con el estudio mencionado anteriormente y puede sugerir que los diámetros foliculares registrados de ovulaciones previas pueden ser tenidos en cuenta para predecir el momento óptimo del servicio en CE consecutivos.

Se encontró un mayor porcentaje de ovulaciones en el ovario derecho durante los dos CE, lo cual coincide con los hallazgos de Gastal (2009) quien reportó mayor presencia del FD en el ovario derecho (61%) comparado con el izquierdo (39%); aunque difiere de lo encontrado por Ginther (1995) quien estableció que un 56% de las yeguas ovularon por el ovario izquierdo y el 44% por el derecho; Ramírez et ál. (2010) reportaron 60% de ovulaciones en el ovario izquierdo y 40% en el derecho. Ginther (1992) encontró que el 47% de las yeguas ovularon del ovario izquierdo y 53% del derecho; esta diferencia en el porcentaje puede ser un hallazgo incidental y requiere más estudios para determinar cuáles factores pueden influenciar la ubicación del folículo preovulatorio.

En este estudio se presentó un solo caso de ovulación doble en un CE de una yegua de 5 años de edad. Las variables que pueden afectar la presencia de ovulaciones dobles en yeguas son la raza, la edad, el estado reproductivo y el nutricional; aunque se ha reportado que la tasa de ovulaciones dobles es mayor en yeguas de la raza PSI y en yeguas mayores de 17 años (35,6%), también se ha encontrado una tasa de 20,7% en yeguas de 2 a 4 años (Davies Morel et al. 2005). Posiblemente la baja presentación de ovulaciones dobles en el presente estudio pueda deberse a la edad, ya que las yeguas analizadas tenían entre 4 a 14 años y a que la tasa de ovulaciones dobles es mayor en otras razas de equinos y puede ser baja en yeguas CC; además de lo encontrado en el presente estudio, solamente hay un reporte de un caso de ovulación doble en una yegua CC (López y Rodríguez 2005). Aunque se ha descrito que las ovulaciones dobles están asociadas a la presentación de dos folículos que continúan creciendo de forma paralela durante la desviación folicular, alcanzan la madurez y son ovulados; no se han establecido los factores que pueden llevar a la ocurrencia de ovulaciones múltiples en yeguas (Gastal 2009). Sin embargo, se ha encontrado que las diferencias en las concentraciones plasmáticas de hormonas entre las ovulaciones dobles y simples son más un efecto que una causa de las ovulaciones múltiples, debido a que en las yeguas que presentan ovulaciones dobles el FD tiene menor tamaño, el nivel de FSH plasmática

es más bajo y los estrógenos más altos entre el día 2,5 y -0,5 antes de la ovulación, comparado con las yeguas que tienen ovulaciones simples (Ginther et al. 2008).

El comportamiento de estro en la yegua es evidente durante 5 a 7 días en promedio; la duración depende de la yegua y del período estacional (Pryor y Tibary 2005). La duración del estro en el presente estudio fue de 5,9 días con un rango de 1 a 11 días, lo cual está influenciado posiblemente por factores intrínsecos y extrínsecos de cada yegua (Daels y Hughes 1993). Esta amplia variación en el rango de duración del comportamiento de estro sugiere que la evidencia o ausencia de los signos de estro no son un factor seguro para determinar el momento óptimo para realizar la inseminación artificial o natural y deben ser observados en conjunto con otros aspectos como el diámetro folicular y el edema uterino (Samper y Pycock 2007).

El grado de edema y el tamaño folicular son marcadores importantes para decidir cuándo inseminar o aparear la yegua. La intensidad del edema uterino disminuye a medida que se acerca la ovulación (Cuervo-Arango y Newcombe 2008). Un edema uterino con valores entre 1 y 2, precedido por un grado de 3 y la presencia de un folículo grande es un buen indicador de ovulación inminente; por el contrario un edema clasificado con bajo puntaje, con folículos de menor tamaño, puede indicar la presentación de estro temprano; además la presencia de edema uterino es la mejor señal de la presentación de receptividad sexual en la yegua normal aun cuando no presente signos evidentes. Las yeguas que tienen un grado de edema uterino alto en el momento de la ovulación pueden ser propensas a acumular líquidos dentro del útero después de la inseminación o monta natural (Samper y Pycock 2007).

El comportamiento de estro es un buen indicador de la presencia de celo en la yegua, y en el presente estudio se pudieron observar los signos más comunes descritos en la literatura en la mayoría de las yeguas (Crowell-Davis 2007; McDonnell 2000); esto destaca la importancia de observar el comportamiento de las yeguas ante el macho para determinar la etapa del estro en que se encuentra la yegua. Los signos de comportamiento de estro descritos en la literatura coinciden con los encontrados en este estudio, donde los más frecuentes fueron la eversión rítmica del clítoris, levantamiento de la cola y micción frecuente; cuando una yegua presenta estos signos y además permanece quieta probablemente está en estro; si por el contrario es agresiva ante el

macho lo más probable es que esté en diestro (Crowell-Davis 2007); lo cual se evidenció en este estudio. Sin embargo el llamado <<recelaje>> (detección de presencia de estro con el uso de un macho entero) no es 100% seguro para determinar el estado del estro y la intensidad y duración de los signos de estro, porque ellos pueden variar en cada yegua. En este estudio se observó un caso donde no se evidenció ningún signo de celo, al contrario la yegua se mostró agresiva ante el macho, a pesar de tener un desarrollo folicular normal; el celo no expresado, en donde la yegua tiene desarrollo folicular y ovula pero sin mostrar signos de celo, puede deberse a factores sociales de dominancia en grupos de yeguas o a factores particulares de preferencia por un macho en particular, por esto es recomendable hacer la detección de celo con machos diferentes y de manera individual (Crowell-Davis 2007).

Según Cuervo-Arango y Newcombe (2008), el grado de edema uterino se repite en ciclos consecutivos lo cual coincide a lo encontrado en este estudio; aunque se presentó el caso de una yegua que no presentó ningún grado de edema durante el primer CE, el cual fue de 18 días de duración, con evidencia de signos de celo solamente el día anterior y el día siguiente a la ovulación, que ocurrió cuando el FD tenía un diámetro de 36,8 mm de diámetro. Aunque el siguiente CE fue de la misma duración, sí se encontró edema, signos de celo más evidente y un folículo de mayor diámetro. Estas variaciones individuales en el patrón de edema uterino deben ser aclaradas y es deseable determinar si están correlacionadas con variaciones en los niveles plasmáticos de estrógenos que puedan estar alterando la presentación de edema y del comportamiento característico de estro.

2.6 Conclusiones y recomendaciones

Se determinó que la duración del CE de un grupo de yeguas CC en la zona rural de Pereira fue de $21,5 \pm 1,8$ días y del estro de $5,9 \pm 1,8$ días. El tamaño promedio al momento de la ovulación del folículo preovulatorio fue de $44,3 \pm 4,8$ mm, con una tasa de crecimiento promedio de $1,6 \pm 0,4$ mm/día para el FD y de $0,67 \pm 0,4$ mm/día para el FS. La tasa de crecimiento del FD disminuyó aproximadamente un día antes que ocurra la ovulación.

Aunque durante todo el CE se evidenció actividad folicular, ésta fue menor durante la fase de diestro temprano. Se evidenció una sola onda de crecimiento folicular en todas las yeguas analizadas, con la presencia de un FD que terminó en ovulación. Se encontró que hay más ovulaciones por el ovario derecho que por el ovario izquierdo en los dos CE analizados. Solamente hubo un caso de ovulación doble en una yegua de 5 años de edad, la cual se presentó en un solo CE de los dos estudiados; esto puede indicar que la yegua CC tiende a presentar ovulaciones simples comparada con otras razas.

Para aumentar la eficiencia reproductiva en un criadero o en cada animal se deben tener en cuenta diferentes variables en conjunto como son el tamaño folicular a la ovulación, el edema uterino, y la disposición de la yegua al caballo. El grado de edema uterino es esencial para determinar el estro; además cuando se encuentra un folículo de gran tamaño y el edema alcanza un nivel máximo y disminuye días después puede indicar que ocurrirá la ovulación y es un momento óptimo para llevar a cabo la inseminación artificial o monta natural.

La variación de los resultados entre los animales es muy amplia, por esto siempre se debe recordar la individualidad en el comportamiento reproductivo de cada animal. Siempre se debe tener en cuenta que existen factores de cada individuo, genéticos, medioambientales y nutricionales que pueden influenciar y hacer variar la fisiología reproductiva. Por esto es importante realizar seguimientos más detallados y continuos, llevar registros individuales que permiten conocer el comportamiento de cada animal y poder conocer la duración individual del CE en cada animal.

2.7 Referencias

Bergfelt DR, Adams GP. 2007. The normal female reproductive system. Ovulation and corpus luteum development. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. *Current Therapy in Equine Reproduction*. Missouri: Saunders Elsevier. p. 1-13.

Boeta M, Porras A, Zarco LA, Aguirre-Hernández R. 2006. Ovarian activity of the mare during winter and spring at a latitude of 19°21' north. *J Equine Vet Sci*. 26(2):55-58.

Carnevale EM, Ginther OJ. 1992. Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology*. 37:1101–1115.

Crowell-Davis SL. 2007. Sexual behavior of mares. *Hormones and Behavior*. 52:12–17.

Cuervo-Arango J, Newcombe JR. 2008. Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. *Theriogenology*. 69:681–687.

Daels PF, Hughes JP. 1993. The normal estrous cycle. In: McKinnon AO, Voss JL, editors. *Equine Reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger. p. 121-132.

Davies Morel MCG, Newcombe JR, Swindlehurst JC. 2005. The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare. *Theriogenology*. 63: 2482–2493.

Donadeu FX, Ginther OJ. 2002. Changes in concentrations of follicular fluid factors during follicle selection in mares. *Biol Reprod*. 66:1111–1118.

Gaitán AA. 1987. Duración media del ciclo estral en yeguas en el pie de monte llanero. [Tesis de Pregrado]. [Villavicencio, Colombia] Universidad Tecnológica de los Llanos Orientales.

Gastal EL, Gastal MO, Bergfelt DR, Ginther OJ. 1997. Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. *Biol Reprod.* 57:1320-1327.

Gastal EL, Gastal MO, Wiltbank MC, Ginther OJ. 1999. Follicle deviation and intrafollicular and systemic estradiol concentrations in mares. *Biol Reprod.* 61:31–39.

Gastal EL. 2009. Recent advances and new concepts on follicle and endocrine dynamics during the equine periovulatory period. *Anim Reprod.* 6(1):144-158.

Ginther OJ. 1992. *Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects*, 2nd ed., Madison (WI): Equiservices Publishing. p. 141-144.

Ginther OJ. 1995. *Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Horses. Book 2.* Madison (WI): Equiservices Publishing. p. 23-66.

Ginther OJ. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim Reprod Sci.* 60-61:61-79.

Ginther OJ, Beg MA, Bergfelt DR, Donadeu FX, Kot K. 2001. Follicle selection in monovular species. *Biol Reprod* 65:638-647.

Ginther OJ, Beg MA, Gastal MO, Gastal EL. 2004. Follicle dynamics and selection in mares. *Anim Reprod.* 1(1):45-63.

Ginther OJ, Utt MD, Beg MA. 2007. Follicle deviation and diurnal variation in circulating hormone concentrations in mares. *Anim Reprod Sci.* 100:197–203.

Ginther OJ, Gastal EL, Rodrigues BL, Gastal MO, Beg MA. 2008. Follicle diameters and hormone concentrations in the development of single versus double ovulations in mares. *Theriogenology.* 69(5):583-590.

Henaó G, Trujillo LE. 2003. Dinámica folicular y función lútea durante la gestación temprana. Estudio de un caso en *Bos indicus*. *Rev Fac Nal Agr.* 56(1):1779-1788.

Ideam, Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios ambientales de Colombia, 2005. Atlas Climatológico de Colombia. Parte III, Aspectos Departamentales [Internet]. Colombia: Centro de documentación e Información científico técnica. [citado 2007 jun 01]. Disponible en: <https://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/Bvirtual/019711.htm>.

Ideam, Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios ambientales de Colombia, 2001. El medio ambiente en Colombia. Capítulo 7, Ecosistemas [Internet]. Colombia: Centro de documentación e Información científico técnica. [citado 2008 feb 01]. Disponible en: <https://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/Bvirtual/000001/cap7.pdf>.

López JJ y Rodríguez CA. 2005. Dinámica ovárica y niveles de progesterona durante el ciclo estral de yeguas criollas colombianas en la Sabana de Bogotá-Colombia. [Tesis de Pregrado]. [Bogotá, Colombia] Universidad Nacional de Colombia.

Madill S. 2002. Reproductive considerations: mare and stallion. *Vet Clin Equine*. 18:591–619.

Marković D, Pavlović M, Pavlović V. 2003. Seasonality, folliculogenesis and luteogenesis in mare ovaries. *Facta universitatis - series: Medicine and Biology*. 10(3): 120-126.

McDonnell SM. 2000. Reproductive behavior of stallions and mares: comparison of free-running and domestic in-hand breeding. *Anim Reprod Sci*. 60–61:211–219.

Newcombe JR. 1996. Ultrasonography of ovulation and development of the corpus luteum in the mare. *Equine Vet Ed*. 8(1):47-58.

Pryor P, Tibary A. 2005. Management of Estrus in the Performance Mare. *Clin Tech Equine Pract*. 4:197-209.

Ramírez G, Gutiérrez C, Ramos M. 2010. Dinámica folicular en yeguas Paso Fino colombiano medido por ultrasonografía en la Sabana de Bogotá. *Rev Med Vet*. 19:21-35.

Samper JC. 1997. Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to timed ovulation in mares. In: Proceedings of the 43rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 1997 december 7-10, Phoenix, Arizona, USA, p.189-191.

Samper JC, Pycock JF. 2007. The normal female reproductive system. The normal uterus in estrus. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. Current Therapy in Equine Reproduction. Missouri: Saunders Elsevier. p. 32-35.

3. Diámetro del cuerpo lúteo y progesterona sérica durante el ciclo estral en yeguas criollas colombianas

3.1 Resumen

Determinar el diámetro del cuerpo lúteo (CL) y los niveles séricos de progesterona (P4) durante el ciclo estral (CE) en yeguas Criollas Colombianas (CC). Se utilizaron 30 yeguas entre 4 a 14 años de edad, ubicadas en Pereira (Colombia). Se realizó ultrasonografía transrectal diariamente, desde la ovulación (día cero), durante dos CE para evaluar el diámetro del CL. Se tomaron muestras de sangre cada 48 horas entre una ovulación y la siguiente para cuantificar niveles séricos de P4 por la técnica de radioinmunoanálisis (RIA). Los datos fueron analizados con estadística descriptiva, desviación estándar, ANOVA para determinar diferencias entre los CE y una prueba de correlación entre el diámetro del CL y P4. El tamaño del CL durante el CE fue $18,3 \pm 5,9$ mm (promedio \pm desviación estándar). El diámetro el día cero fue $25,1 \pm 4,5$ mm y el tamaño final del CL $8,5 \pm 0,9$ mm el día 20 del CE. El mayor diámetro del CL se encontró el día 2 postovulación ($26,4 \pm 5,0$ mm). Los niveles máximos de P4 se encontraron al día 6 postovulación ($10,7 \pm 4,3$ rango 2,51 a 18,8 ng/ml). La concentración de P4 durante el diestro fue $6,6 \pm 3,6$ (1,15 a 10,7 ng/ml) y durante el estro $0,25 \pm 0,3$ (0,01 a 0,86 ng/ml). La yegua CC presenta una dinámica del CL similar a la reportada en la literatura. Los valores aquí reportados pueden ser el punto de partida para establecer valores de referencia de utilidad clínica.

Palabras clave: ciclo estral, cuerpo lúteo, progesterona, yeguas.

Abstract

Determine the diameter of the corpus luteum (CL) and serum progesterone (P4) during the estrous cycle (EC) in Colombian Criollo mares (CC). Thirty mares between 4 and 14 years old were followed to determine CL diameter and serum P4 levels. The animals were located in Pereira (Colombia). Transrectal ultrasonography was performed daily through two EC, from ovulation to ovulation. Blood samples were taken every 48 hours during an estrous cycle, to measure serum levels of P4 by radioimmunoassay (RIA). The data was analyzed using descriptive statistics, with standard deviation; ANOVA to determine differences between the EC and a test of correlation between CL diameter and P4 levels. The size of the CL during the EC was $18,3 \pm 5,9$ mm (mean \pm standard deviation). The average CL diameter found on day zero was $25,1 \pm 4,5$ mm and the final size, was $8,5 \pm 0,9$ mm on day 20 of the EC. The larger diameter of CH was found on day 2 post-ovulation ($26,4 \pm 5,0$ mm). The highest serum P4 levels were found on day 6 post-ovulation ($10,7 \pm 4,3$ range from 2,51 to 18,8 ng/ml); during diestrus, they were $6,6 \pm 3,6$ (range 1,15 to 10,7 ng/ml) and during estrus, $0,25 \pm 0,3$ (range 0,01 to 0,86 ng/ml). The CC mare CL presents a dynamic similar to that reported in the literature. Present findings could be used as a starting point for the establishment of reference values of clinical importance.

Keywords: estrous cycle, corpus luteum, progesterone, mares.

3.2 Introducción

La ovulación sucede en gran parte como respuesta del folículo dominante al aumento en los niveles circulantes de la hormona luteinizante (LH) e involucra eventos concatenados que terminan en la ruptura de un folículo dominante; ocurre en promedio 4,2 días después de que el folículo dominante alcanza 35 mm de diámetro (Bergfelt y Adams 2007). Cuando el folículo se rompe durante la ovulación también hay ruptura de vasos sanguíneos de la pared folicular, esto lleva a la formación de una cavidad que contiene fluido folicular y sangre proveniente de la ovulación, la cual es conocida como cuerpo hemorrágico (CH). En condiciones normales, el CH puede ser detectado desde el momento de la ovulación hasta 1 a 3 días postovulación, posteriormente comienza a aumentar su tamaño y a perder su apariencia hemorrágica transformándose en cuerpo lúteo (CL) (Newcombe 1996). Después de la ovulación, ocurre la luteinización en las

células de la teca interna y las células de la granulosa del folículo; en este proceso las células del folículo ovulatorio se convierten en tejido luteal (Bergfelt y Adams 2007).

La maduración funcional del cuerpo lúteo está caracterizada por un aumento progresivo de las concentraciones circulantes de progesterona (P4) (>1 ng/ml), lo cual se relaciona estructuralmente con un aumento en el diámetro del CL, incremento de la irrigación sanguínea y disminución de la ecogenicidad (Bergfelt y Adams 2007; Newcombe 1996). Las concentraciones plasmáticas máximas de P4 durante la mitad del diestro (días 5 a 7) pueden estar entre 4 a 10 ng/ml (Nett et al. 1976) y se correlacionan con un mayor diámetro luteal, con un aumento de la irrigación sanguínea y con un nivel de baja ecogenicidad. Los niveles séricos de P4 permanecen elevados por un periodo de 6 a 10 días y declinan rápidamente hasta llegar a niveles basales. Posterior al día 13-16 del diestro (diestro tardío), la prostaglandina F2alfa (PGF2 α) se sintetiza en el endometrio, alcanza el ovario por vía sistémica y genera la regresión funcional del CL la cual se caracteriza por una disminución progresiva de los niveles de P4, del diámetro luteal y de la vascularidad, y por un aumento en la ecogenicidad (Bergfelt y Adams 2007). Durante el estro, las concentraciones de P4 en el plasma son menores de 1 ng/ml (Daels y Hughes 1993; Nett et al. 1976).

En un estudio en yeguas criollas colombianas (CC) ubicadas en Bogotá, en el cual se evaluaron los niveles de P4 cada tercer día, se encontraron valores de producción de P4 más altos que los reportados para las demás razas. La producción máxima de P4 se situó entre los 9,35 y 28,57 ng/ml; a partir del día 9 comenzó la caída de la curva de P4 y en el día 15 sus niveles se acercaron a 1 ng/ml (López y Rodríguez 1995). En España en un estudio con dos razas de yeguas, se concluyó que las concentraciones de P4 plasmática no manifiestan diferencias significativas entre los dos genotipos durante el celo, pero sí en la fase luteal; los valores en la raza árabe oscilaron entre 5,98 a 12,8 mientras que para la raza andaluza variaron entre 4,58 a 8,3 ng/ml (Vivo et al. 1986).

Dada la amplia variación de las condiciones climáticas en el trópico colombiano y su consabida injerencia en la función ovárica de la yegua, se hace necesario establecer los valores de referencia de la fisiología reproductiva de importancia clínica en yeguas CC. Lo anterior permitiría mejorar y aumentar la eficiencia reproductiva de cada animal y

tomar las medidas preventivas y curativas correspondientes según el caso y para futuros estudios que contribuyan a la preservación de la raza equina CC.

El presente trabajo tuvo como objetivo establecer los cambios en los niveles de P4 durante un CE; determinar la evolución del desarrollo y medir el CL por medio de ultrasonografía durante dos CE consecutivos en yeguas CC.

3.3 Materiales y métodos

3.3.1 Animales y condiciones medioambientales

Se utilizaron 30 yeguas de la raza CC ubicadas en diferentes zonas rurales del municipio de Pereira (Risaralda), a una altura de 1.411 msnm, 4°49' de latitud norte y 75°42' de longitud oeste; temperatura promedio de 21,8°C, humedad relativa de 75%, precipitación media de 2.210 mm/año y un promedio de brillo solar diario de 13 horas (Ideam 2005). Lo anterior corresponde al llamado piso térmico templado colombiano (Ideam 2001).

La edad de los animales osciló así: entre los 4 a 7 años (n=17), de 8 a 11 años (n=10) y de 12 a 14 años (n=3). El peso corporal, entre 320 y 400 Kg, con una buena condición corporal (en promedio 6/9). Todos los animales permanecían estabulados, con una dieta de pasto de corte King grass (*Pennisetum purpureum*), el cual se suministró a voluntad, 4 kg de concentrado al día (12-15% nivel de proteína) y sal a voluntad. Las yeguas se hallaban en buenas condiciones de salud y sin ninguna anormalidad reproductiva, lo cual fue determinado por medio de la inspección visual de los órganos reproductivos externos, palpación rectal y ultrasonografía del tracto reproductivo. Se utilizó un ecógrafo Honda electronics modelo HS 1500V (Honda Electronics Co., Ltd, Japón), equipado con un transductor rectal lineal multifrecuencia de 10, 7,5 y 5 MHz modelo HLV-375M y con capacidad de almacenamiento de 60 imágenes. Se empleó una sonda de 7,5 Mhz.

3.3.2 Seguimiento ultrasonográfico

El presente trabajo se inició al identificar por ultrasonografía el día de la ovulación, el cual se tomó como el día cero. A partir de este momento se comenzó un seguimiento ecográfico diario de cada yegua, durante dos CE consecutivos, para determinar el tamaño del CL, el cual se obtuvo del promedio al medir el CL transversal y

longitudinalmente. En el CH se realizó la medición tomando desde el borde interno de la pared.

3.3.3 Cuantificación de los niveles séricos de P4

Se tomaron muestras de sangre por medio de punción de la vena yugular con el sistema de vacutainer® en tubos sin anticoagulante, los días 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 y 20 de uno de los CE hasta la siguiente ovulación. Este muestreo se realizó durante el seguimiento de uno de los dos CE en cada yegua seleccionada y la muestra obtenida se centrifugó a 3000 r.p.m. durante 15 minutos, para obtener el suero sanguíneo, que fue almacenado en viales plásticos a -20°C . La cuantificación de los niveles de P4 se realizó por la técnica de RIA de fase sólida con el kit comercial Coat-A-Count Progesterona® (Siemens, USA), con una especificidad de 0,02 ng/ml. A partir de los niveles de P4 se caracterizaron las fases del CE de la yegua CC; donde los valores inferiores a 1 ng/ml indicaron la fase folicular, y los valores superiores a este valor determinaron la fase luteal.

3.3.4 Análisis estadístico

Se aplicó la estadística descriptiva con valores de promedio y desviación estándar (DE) para todos los parámetros a evaluar. Se realizó un análisis de varianza de un factor (ANOVA) entre los datos del primer y segundo CE para determinar si existían diferencias, y entre los diámetros del CL de los dos CE. También se realizó una prueba de correlación entre el diámetro del CL y los niveles de P4 sérica.

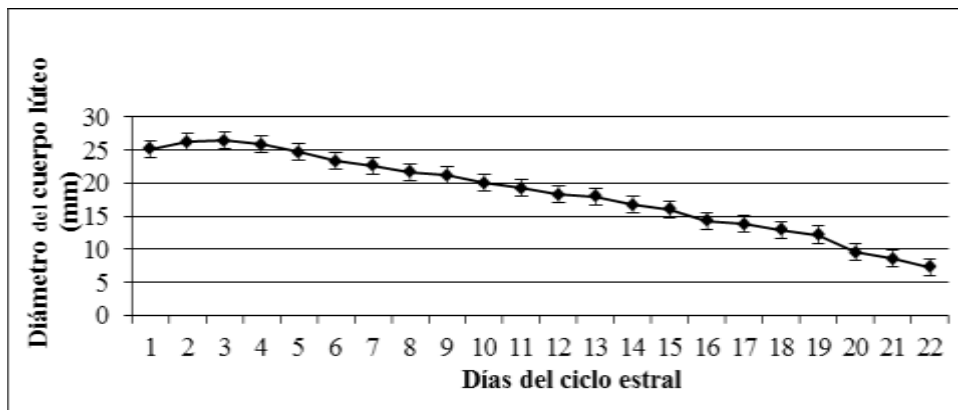
3.4 Resultados

De acuerdo con los niveles de P4 y los hallazgos ultrasonográficos, la duración promedio del primer CE fue de 21.7 ± 2.3 (rango 18 a 28 días), con una fase luteal de 14.2 ± 1.4 días (rango 11 – 17 días) y de 6.7 ± 2.2 días (rango 3 – 12 días) para la fase folicular. En el segundo CE la duración promedio fue de 21.7 ± 2.8 (rango 16 a 33 días), con una fase luteal de 14.3 ± 1.0 días (rango 13 – 17 días) y de 7.6 ± 5.0 días (rango 3 – 17 días) para la fase folicular.

3.4.1 Desarrollo del cuerpo lúteo durante el ciclo estral

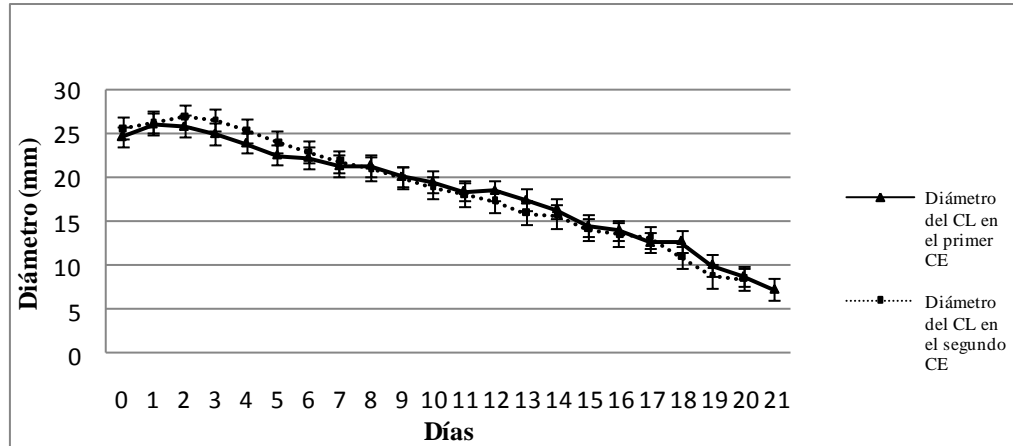
Aunque no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los dos CE analizados, los resultados obtenidos de cada uno de ellos, se presentan por separado en las tablas 3-1 y 3-2. En el día cero el CH hiperecogénico tenía con una cavidad intraluteal llena de fluido, la cual alcanzó su mayor tamaño el día 2 postovulación ($26,4 \pm 5,0$ mm) (promedio \pm DE). El diámetro promedio encontrado el día cero fue de $25,1 \pm 4,5$ mm y el tamaño final del CL fue de $8,5 \pm 0,9$ mm el día 20 del CE. El diámetro promedio del CL durante el CE fue de $18,3 \pm 5,9$ con un rango de 7,3 a 26,4 mm (última y primera observación, respectivamente) (Figura 3-1). El CL disminuyó progresivamente de tamaño y se pudo visualizar, en promedio hasta el día $16,0 \pm 2,0$ (11 a 20 días postovulación).

Figura 3-1: Valor promedio del diámetro del cuerpo lúteo durante el ciclo estral de yeguas criollas colombianas ($n=30$).



Entre los días 0 y 4 del primer CE observado, los valores promedio de los rangos de los CL analizados fueron 24.70 – 25.88 mm y para el segundo CE de 26.19 – 27.50 mm. Entre los días 4 y 8, los valores correspondientes fueron 21.57 – 22.86 mm y 22.94 – 24.26, respectivamente. Para los días 8 a 12 fueron de 18.59 – 19.69 mm y 19.1 – 21.06 mm, respectivamente. Para los días 12 a 16, fueron 15.29 – 16.85 y 15.41 – 17.23 respectivamente. Después del día 16 del CE los valores estuvieron entre 10.5 – 12.68, y 11.93 – 12.50 mm (Figura 3-2). En las tablas 3-1 y 3-2 se observa el rango del diámetro del CL y el porcentaje de yeguas en cada rango, durante el primer y segundo CE respectivamente. La imagen ultrasonográfica del CL en diferentes días del CE puede ser observada en la figura 3-3.

Figura 3-2: Valor promedio del diámetro del CL durante los dos ciclos estrales consecutivos de yeguas criollas colombianas (n=30).



De las 30 yeguas analizadas solamente una presentó ovulación doble; los datos de esta yegua se excluyeron del análisis de diámetro de CL y de la P4 durante el CE; aunque al analizar los promedios del diámetro del CL con los de ovulación doble no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$). En la yegua con ovulación doble el diámetro promedio encontrado el día cero fue de $21,7 \pm 2,1$ mm (20,2 mm y 23,3 mm el CL del ovario derecho e izquierdo, respectivamente) y el tamaño final del CL del ovario derecho fue 13,8 mm el día 17 del CE y el del ovario izquierdo 11,4 mm el día 18 del CE; el CL alcanzó su mayor tamaño el día 2 postovulación (27,7 mm en el ovario derecho y 25,5 mm en el izquierdo). El diámetro promedio del CL durante el CE en la yegua con ovulación doble fue de $18,8 \pm 4,1$ con un rango de 11,4 a 26,6 mm (última y primera observación, respectivamente).

Tabla 3-1: Valores promedio del diámetro del cuerpo lúteo en yeguas criollas colombianas (n=29*) durante el primer ciclo estral.

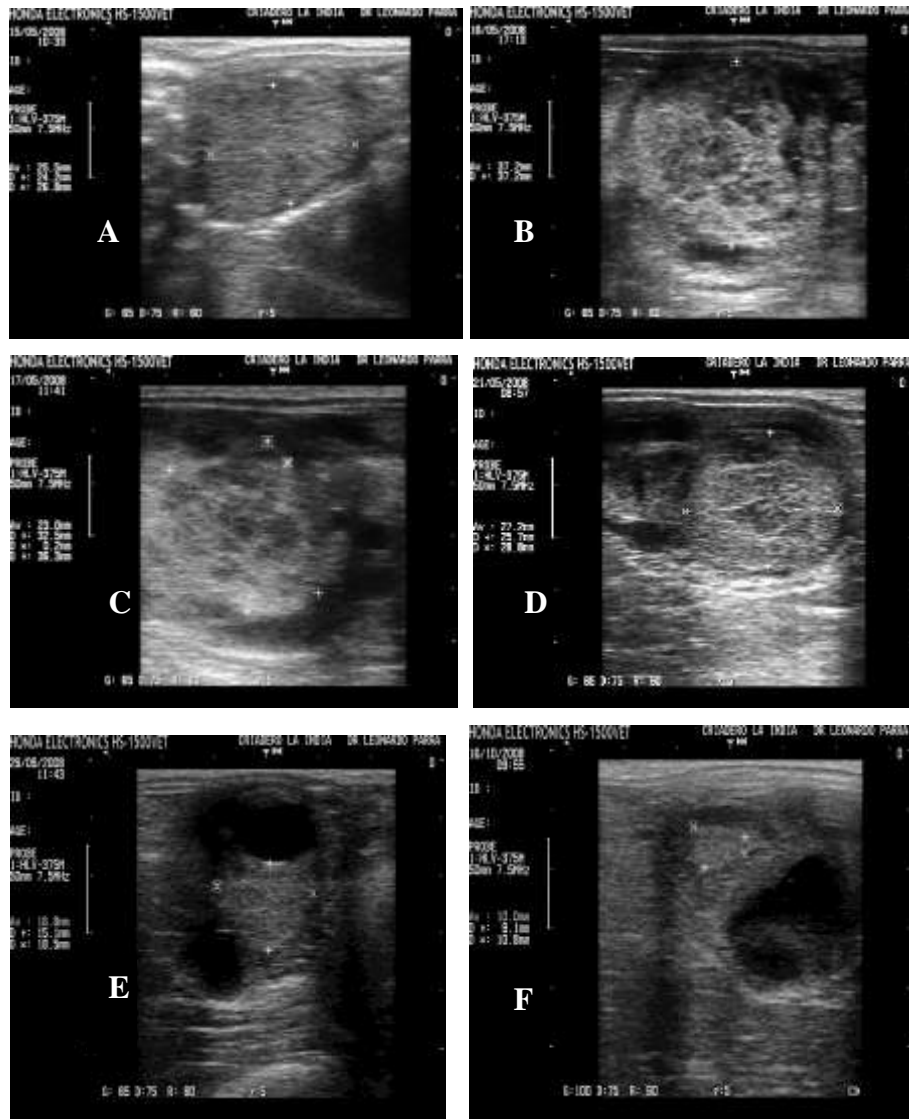
| Rango de diámetro del cuerpo lúteo (mm) | Porcentaje de yeguas |
|---|----------------------|
| 13,0 - 16,9 | 6,89 % |
| 17,0 – 19,9 | 31,0 % |
| 20,0 – 23,9 | 51,7 % |
| 24,0 – 27,49 | 10,3 % |

*Se excluyeron los datos de una yegua que presentó ovulación doble.

Tabla 3-2: Valores promedio del diámetro del cuerpo lúteo en yeguas criollas colombianas (n=30) durante el segundo ciclo estral.

| Rango de diámetro del cuerpo lúteo (mm) | Porcentaje de yeguas |
|---|----------------------|
| 13,0 - 16,9 | 0 % |
| 17,0 – 19,9 | 36,6 % |
| 20,0 – 23,9 | 50 % |
| 24,0 – 27,49 | 13,3 % |

Figura 3-3: Imagen ultrasonográfica del cuerpo lúteo en diferentes días del ciclo estral en yeguas criollas colombianas. Cuerpo lúteo observado el día 0 (A), día 1 (B), Día 2(C), día 6 (D), día 14 (E) y día 19 (F) del ciclo estral. (Imágenes provenientes de diferentes animales).



3.4.2 Cuantificación de los niveles séricos de progesterona durante el ciclo estral

Los valores obtenidos de los niveles séricos de P4 a través del CE de la yegua aparecen en la figura 3-4. En promedio entre el día 0 y 16 del CE los valores de P4 fueron superiores a 1 ng/ml. El día cero (día de la ovulación) fue de $1,8 \pm 2,9$ ng/ml (rango 0,003 a 12,2 ng/ml) y posteriormente incrementó hasta alcanzar el valor máximo hacia el día 6 postovulación, de $10,7 \pm 4,3$ con un rango de 2,51 a 18,8 ng/ml. Los niveles permanecieron elevados por 6 a 12 días ($9,6 \pm 1,1$ ng/ml) y a partir de este momento comenzó la caída drástica de la curva de P4 hasta llegar a niveles inferiores a 1 ng/ml. La concentración de P4 durante la fase luteal fue de $6,6 \pm 3,6$ con un rango de 1,15 a 10,7 ng/ml y durante la fase folicular de $0,25 \pm 0,3$ con un rango de 0,01 a 0,86 ng/ml. En la figura 3-4 se puede observar la variación de los valores obtenidos para los niveles séricos de P4 y el diámetro del CL durante el CE. No se encontró una correlación entre el diámetro del CL y los niveles plasmáticos de P4 ($r=0,58$; $p<0,05$). El coeficiente de variación intraensayo fue de 2,09 %. Los niveles plasmáticos de P4 fueron más altos en la yegua con ovulación doble, en comparación con los de las otras yeguas ($p<0,05$) (Figura 3-5).

Figura 3-4: Valores promedio y desviación estándar de los niveles séricos de progesterona (ng/ml) y del diámetro del cuerpo lúteo durante el ciclo estral de yeguas criollas colombianas ($n=30$) ($r=0,58$).

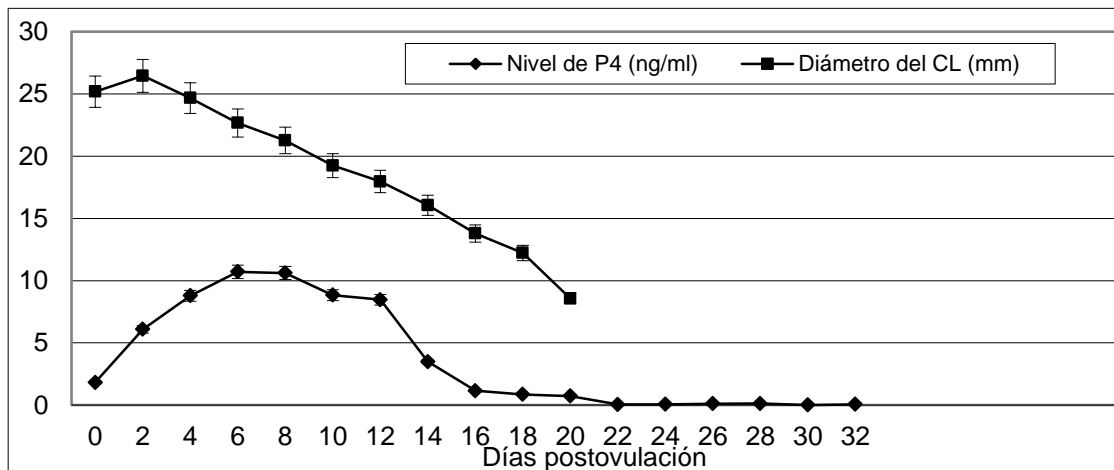
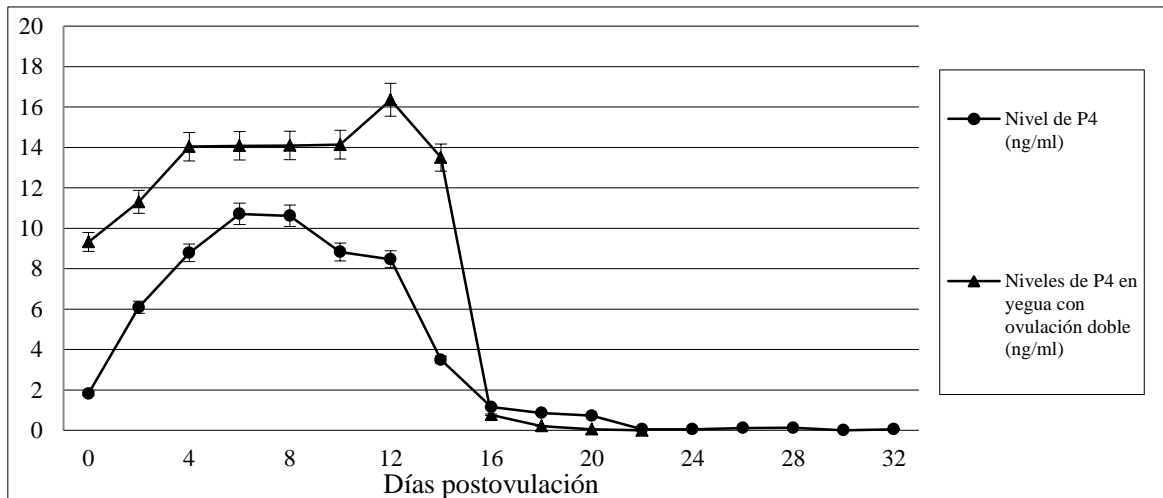


Figura 3-5: Valores promedio y desviación estándar de los niveles séricos de progesterona (ng/ml) durante el ciclo estral de yeguas criollas colombianas (n=30) comparados con una yegua que presentó ovulación doble ($p < 0,05$). Las barras de error representan la desviación estándar.



De acuerdo con los niveles de P4 y los hallazgos ultrasonográficos, la duración promedio del primer CE fue de $21,7 \pm 2,3$ (rango 18 a 28 días), con una fase luteal de $14,2 \pm 1,4$ días (rango 11 – 17 días) y de $6,7 \pm 2,2$ días (rango 3 – 12 días) para la fase folicular. En el segundo CE la duración promedio fue de $21,7 \pm 2,8$ (rango 16 a 33 días), con una fase luteal de $14,3 \pm 1,0$ días (rango 13 – 17 días) y de $7,6 \pm 5,0$ días (rango 3 – 17 días) para la fase folicular.

3.5 Discusión

Dado que el CL en la yegua no es detectable por medio de palpación rectal, la ultrasonografía es una herramienta muy útil y precisa para determinar si ocurre la ovulación, evaluar la morfología del CL y su permanencia así como para establecer la relación entre estructura y función asociada con el desarrollo folicular y luteal (Nett et al. 1996; Ginter 1988). Esta información es útil ya que se ha descrito que la actividad luteal disminuida o prolongada está asociada con patologías uterinas como endometritis o piómetra los cuales pueden llevar a la liberación prematura o disminución de PGF2 alfa (Bergfelt y Adams 2007).

En el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre el diámetro del CL durante los dos CE analizados. Esto implica que posiblemente hay una regularidad en el desarrollo del CL en la yegua durante CE sucesivos (aunque es deseable que haya más estudios al respecto). Por ende, los valores aquí reportados, pueden tener importancia como referencia en las evaluaciones clínicas para definir posibles anomalías como por ejemplo insuficiencias luteales, que pueden resultar en pérdidas embrionarias; además se ha descrito que los cambios en la morfología del CL, evaluados mediante ultrasonografía, reflejan modificaciones estructurales asociados con el desarrollo funcional del CL (Bergfelt y Adams 2007; Newcombe 1996). El diámetro promedio del CL en este estudio fue menor ($18,3 \pm 5,9$ mm) comparado con el diámetro reportado en un estudio en yeguas Pura Sangre Inglés o yeguas de carreras ($25,3 \pm 3,8$ mm) (Ginther 1995), lo cual puede indicar una diferencia del diámetro del CL según la raza y el tamaño del animal. Los datos aquí obtenidos acerca de los rangos para el diámetro del CL, tienen pertinencia en los análisis clínicos si no hay la posibilidad de obtener información acerca de los valores séricos de P4. Es recomendable corroborar los datos obtenidos en este estudio, ya sea en el mismo genotipo equino o en otros.

En el presente estudio se encontraron concentraciones séricas de P4 durante el CE de la yegua, con niveles superiores durante la fase luteal ($6,6 \pm 3,6$ ng/ml) comparado con la fase folicular ($0,25 \pm 0,3$ ng/ml) como se describió en diferentes estudios (Nett et al. 1976; Daels y Hughes 1993). Las concentraciones de P4 fueron más altas en la mitad de la fase luteal que al comienzo de ésta; el nivel máximo de P4 se encontró el día 6 postovulación, lo cual se debe a la maduración del CL que alcanza su máxima capacidad funcional en este momento (Bergfelt y Adams 2007). Se han reportado valores de P4 en yeguas durante la fase luteal entre 6 y 10 ng/ml (Daels y Hughes 1993); en un estudio en yeguas criollas los valores de P4 encontrados en el punto máximo están entre 9,35 y 28,57 ng/ml (López y Rodríguez 1995). En el presente estudio, la concentración de P4 durante la fase luteal fue de $6,6 \pm 3,6$ con un rango de 1,15 a 10,7 ng/ml y el rango del nivel encontrado en el día de máxima concentración de P4 estuvo entre 2,51 a 18,8 ng/ml.

En estudios morfológicos del CL se ha encontrado que éste presenta un área vascular de mayor tamaño durante el inicio y la mitad de la fase luteal comparado con el final de la fase luteal; además que los niveles de P4 sérica han sido más altos cuando hay un CL

maduro, el cual tiene un área vascular más grande y un mayor número de vasos sanguíneos (Ferreira–Dias et al. 2006). Este aumento en la irrigación de sangre en el CL maduro y en la secreción de P4 también se reporta en otras especies (Miyazaki et al. 1998; Jablonka-Shariff et al. 1993). Esto puede explicar por qué en el presente estudio se encontró un mayor diámetro al inicio de la fase luteal que coincidió con la maduración del CL y los niveles de P4 sérica más altos en la mitad de la fase luteal; y al final disminuyó el diámetro del CL y los niveles de P4 coincidiendo con la luteólisis.

En el presente estudio no se encontró una correlación entre el diámetro del CL y los niveles séricos de P4 ($r=0,58$). En algunos estudios se ha encontrado una relación paralela entre la disminución del área del CL y las concentraciones de P4 durante la luteólisis (Ginther et al. 2007b); sin embargo no se han encontrado diferencias en la producción de P4 al compararla entre dos tipos diferentes de CL, con y sin área central anecogénica y tampoco se encontró una relación entre el tamaño del CL y la producción de P4 en yeguas receptoras (Townson et al. 1989), lo cual puede sugerir que no hay una correlación entre el diámetro medido por ultrasonografía y los niveles séricos de P4 (Arruda et al. 2001).

La duración de la fase luteal en las yeguas puede ser de 14 a 15 días (Daels y Hughes 1993); en las razas Árabe y Andaluz se reportó una duración de la fase luteal de $16,5 \pm 2,25$ días (Vivo et al. 1986) y en yeguas criollas colombianas ubicadas en Bogotá $13,9 \pm 1,52$ días (López y Rodríguez 1995). En el presente estudio la duración de la fase luteal fue de $14,2 \pm 0,07$ días, lo cual coincide con lo descrito en la literatura. Es posible que las variaciones individuales influyan en la duración de la fase luteal, pues la correspondiente al CE tiene fluctuaciones que son consideradas normales, lo cual es válido para las diversas fases del CE.

En el presente estudio se encontró solamente una yegua con ovulación doble, que tuvo los niveles séricos de P4 durante el CE más altos de todos los animales incluidos en el estudio. Las yeguas que presentan ovulación doble tienen aumentos significativos en los niveles de P4 sérica 24 horas después de la segunda ovulación (Daels y Hughes 1993). La incidencia de ovulación múltiple aumenta de manera importante en yeguas de mayor edad, además de estar influenciada por la raza (Pura Sangre Inglés, Caballos de tiro y

Trotones), el estado reproductivo (yeguas primerizas, yeguas en lactancia) y el estado nutricional (Davies Morel et al. 2005). En el presente estudio, la yegua que presentó ovulación múltiple tenía 4 años de edad y no se encontraba bajo la influencia de ninguno de los factores mencionados anteriormente (datos que no se incluyen).

En conclusión los niveles séricos de P4 en la yegua CC son similares a los descritos en la literatura en otras razas y para países estacionales o en diferentes zonas del trópico colombiano. Los cambios en la estructura y morfología del CL reflejan su desarrollo funcional, por lo cual se considera importante evaluarlo morfológicamente para diagnosticar posibles anormalidades, como complemento a la cuantificación de los niveles séricos de P4.

La variación de los resultados en cuanto a diámetro del CL y niveles séricos de P4 es muy amplia; por esto siempre se debe recordar la individualidad en el comportamiento reproductivo, porque existen factores genéticos, medioambientales y nutricionales que pueden influenciar y hacer variar la fisiología reproductiva. Por esto es importante realizar seguimientos más detallados y continuos, llevar registros individuales para conocer las características fisiológicas de cada animal.

Es necesario realizar más estudios en yeguas criollas colombianas en diferentes condiciones medioambientales para establecer los factores que podrían afectar el funcionamiento reproductivo de cada una de las yeguas; además sería importante evaluar otras hormonas involucradas durante el CE y estimar el área de las células del CL, los receptores para LH en las mismas y posibles correlaciones con el peso y diámetro del CL. Los valores aquí reportados pueden ser el punto de partida para el establecimiento de valores de referencia de utilidad clínica.

3.6 Referencias

Arruda RP, Visintin J, Fleury J, Garcia A, Madureira E, Celeghini E et al. 2001. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões equinos?. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 38:233-239.

Bergfelt DR, Adams GP. 2007. The normal female reproductive system. Ovulation and corpus luteum development. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. *Current Therapy in Equine Reproduction*. Missouri: Saunders Elsevier. p. 1-13.

Daels PF, Hughes JP. 1993. The normal estrous cycle. In: McKinnon AO, Voss JL, editors. *Equine Reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger. p. 121-132.

Davies Morel MCG, Newcombe JR, Swindlehurst JC. 2005. The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare. *Theriogenology.* 63:2482–2493.

Ferreira-Dias G, Pinto Bravo P, Mateus L, Redmerc DA, Medeiros JA. 2006. Microvascularization and angiogenic activity of equine corpora lutea throughout the estrous cycle. *Domest Anim Endocrinol.* 30:247–259.

Ginther O, Gastal E, Gastal M, Big M. 2007b. Effect of prostaglandin alfa on ovarian, adrenal, and pituitary hormones and on luteal blood flow in mares. *Domest Anim Endocrinol.* 32:315-328.

Ginther OJ. 1995. *Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Horses. Book 2*. Madison (WI): Equiservices Publishing. p. 73-83.

Ginther OJ. 1988. Ultrasonic imaging of equine ovarian follicles and corpora lutea. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 4(2):197-213.

Ideam, Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios ambientales de Colombia, 2005. *Atlas Climatológico de Colombia. Parte III, Aspectos Departamentales* [Internet]. Colombia: Centro de documentación e Información científico técnica. [citado 2007 jun 01]. Disponible en: <https://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/Bvirtual/019711.htm>.

Ideam, Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios ambientales de Colombia, 2001. *El medio ambiente en Colombia. Capítulo 7, Ecosistemas* [Internet]. Colombia: Centro de

documentación e Información científico técnica. [citado 2008 feb 01]. Disponible en: <https://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/Bvirtual/000001/cap7.pdf>.

Jablonka-Shariff A, Grazul-Bilska AT, Redmer DA, Reynolds LP. 1993. Growth and cellular proliferation of ovine corpora lutea throughout the estrous cycle. *Endocrinol.* 133:1871–1879.

López JJ y Rodríguez CA. 2005. Dinámica ovárica y niveles de progesterona durante el ciclo estral de yeguas criollas colombianas en la Sabana de Bogotá-Colombia. [Tesis de Pregrado]. [Bogotá, Colombia] Universidad Nacional de Colombia.

Miyazaki T, Tanaka M, Miyakoshi K, Minegishi K, Kasai K, Yoshimura Y. 1998. Power and color doppler ultrasonography for the evaluation of vasculature of the human corpus luteum. *Reproduction.* 13(10):2836 – 2841.

Nett TM, Pickett BW, Seidel GE, Voss JL. 1976. Levels of Luteinizing Hormone and Progesterone During the Estrous Cycle and Early Pregnancy in Mares. *Biol Reprod.* 14:412-415.

Newcombe JR. 1996. Ultrasonography of ovulation and development of the corpus luteum in the mare. *Equine Vet Ed.* 8(1):47-58.

Townson D, Pierson R, Ginther O. 1989. Characterization of plasma progesterone concentrations for two distinct luteal morphologies in mares. *Theriogenology.* 32(2):197 – 204.

Vivo R, Santisteban R, Tovar P y Castejon F. 1986. Valores de progesterona en plasma de yeguas españolas y árabes durante el ciclo reproductor. *Archivos de Zootecnia.* 35(131):59-67.

4. Progesterona sérica y algunas características uterinas y embrionarias en la gestación temprana de yeguas criollas colombianas

4.1 Resumen

Se inseminaron artificialmente 24 yeguas criollas colombianas (CC) de 4 a 14 años de edad. Se cuantificaron los niveles séricos de P4 por la técnica de radioinmunoanálisis de fase sólida (RIA), se evaluó el cuerpo lúteo (CL), el útero y el edema uterino por ultrasonografía; desde la ovulación hasta el día 40 postovulación. El diagnóstico de preñez se realizó al detectar un conceptus; desde ese momento hasta el día 40 se evaluó diariamente. Los datos fueron analizados usando estadística descriptiva con valores promedio y desviación estándar (DE). El diagnóstico de gestación se hizo el día $10,4 \pm 0,8$ (promedio \pm DE). La tasa de crecimiento del conceptus fue $1,65 \pm 0,1$ mm/día; su fijación al útero ocurrió el día $16,8 \pm 1,5$. El embrión se visualizó dentro de la vesícula el día $20,8 \pm 1,7$; su tasa de crecimiento fue $0,8 \pm 0,3$ mm/día. El latido cardíaco se detectó desde el día $23,9 \pm 1,3$. El 100% de los embriones tuvieron un desarrollo normal hasta el día 40 de la gestación. 62,5% de los CL se ubicaron en el ovario derecho y 33,3% en el izquierdo; un animal presentó ovulación doble. El 66,6% de los conceptus se ubicaron en la unión útero cornual derecha y el 33,3% en la izquierda; 79,1% ipsilateral al CL. La gestación en la yegua CC presenta características fisiológicas similares a las descritas en la literatura. Los datos aquí presentados tienen importancia para las evaluaciones clínicas y constituyen un punto de partida para futuros estudios.

Palabras clave: embrión, progesterona, cuerpo lúteo, yeguas.

Abstract

Twenty four Colombian Criollo (CC) mares 4 to 14 year-old were artificially inseminated. Serum progesterone (P4) levels were measured by radioimmunoassay (RIA) and the corpus luteum (CL), uterus and uterine edema were evaluated by ultrasonography, from ovulation until day 40 post-ovulation. Pregnancy diagnosis was made by conceptus detection at day $10,4 \pm 0,8$ (mean \pm SD). From there until the 40th day of pregnancy, ultrasonographic evaluation was carried out on daily basis. Data were analyzed using descriptive statistics with mean and standard deviation (SD). The conceptus growth rate was $1,65 \pm 0,1$ mm/day, their attachment to the uterus occurred on $16,8 \pm 1,5$. The embryo was visualized within the chorionic vesicle at day $20,8 \pm 1,7$; its growth rate was $0,8 \pm 0,3$ mm/day. The heartbeat was detected at day $23,9 \pm 1,3$. One hundred percent of the embryos had a normal development until day 40 of gestation; 62,5% of CL was located in the right ovary and 33,3% in the left. One animal had double ovulation. 66,6% of conceptus were located in the right cornual uterine junction and the 33,3% in the left; 79,1% ipsilateral to the CL. Pregnancy in the CC mare has physiological characteristics similar to those described in the literature. The data presented here are important for clinical evaluations and are a starting point for future studies.

Keywords: embryo, gestation, progesterone, mares.

4.2 Introducción

La gestación en las yeguas dura de 315 a 345 días y comprende un período embrionario que cubre sus primeros 40 días (Allen 2001; Ginther 1998) y presenta características diferentes a las de otras especies domésticas. Hay cambios morfológicos, inmunológicos y endocrinos en el oviducto y el útero, importantes para el reconocimiento y mantenimiento de la preñez (Spencer et al 2004; Sharp 2000).

La vesícula embrionaria (o conceptus) puede ser detectada por medio del uso de ultrasonido transrectal desde el día nueve de la gestación, con un grado de precisión de 5 a 10% hasta el día 11 (grado de precisión 98%). En esos días el conceptus tiene de 3 a 5 mm de diámetro, es de forma esférica, mantiene crecimiento progresivo y se mueve constantemente en el útero (Gastal et al 1996; Ginther 1995). Su movimiento garantiza que la señal de reconocimiento materno de la preñez se difunda por todo el endometrio

(Allen 2001). Algunos autores determinaron que el conceptus promueve aumento en el tono uterino, disminución del diámetro uterino e incremento de las contracciones uterinas por un mecanismo local (Griffin y Ginther 1993). También, se ha establecido una curva de crecimiento del conceptus basados en la medición del área y ancho del mismo por ultrasonografía. El crecimiento se mantiene constante entre los días 17 a 24 (Gastal et al 1996; Ginther 1995).

El movimiento del embrión dentro del útero persiste hasta el día 16-17 postovulación, cuando ocurre un incremento súbito en el tono miometrial que inmoviliza el conceptus fijándolo en el sitio de la posible implantación, en la base de uno de los cuernos uterinos (Stout y Allen 2001; Ginther 1983a; 1983b). La fijación está dada por el aumento gradual del tono uterino, disminución del diámetro uterino y el aumento del tamaño del embrión (Ginther 1995).

Posteriormente a la fijación, alrededor del día 18 postovulación, el conceptus cambia su forma esférica a triangular, lo cual, sumado a la pausa en su tasa de crecimiento es atribuible al aumento del tono uterino y al engrosamiento de la pared uterina dorsal; simultáneamente, hay un crecimiento compensatorio en la longitud del conceptus (Ginther 1995). Hacia el día 21 postovulación, el conceptus disminuye su tasa de crecimiento en promedio de 2 a 3 mm por día y adquiere de nuevo una forma esférica (Gastal et al 1996; Ginther 1983a). La visualización del embrión en la vesícula embrionaria sucede alrededor del día 21 postovulación y el latido cardiaco se puede detectar entre los días 24 y 25 (Vanderwall et al 2000). La vesícula embrionaria tiene un menor diámetro en yeguas con pérdida gestacional que en yeguas que mantienen la preñez y por esto se debe monitorear de forma continua los embriones de poco tamaño (Vanderwall et al 2000, Papa et al 1998; Ginther et al 1985).

La especie equina tiene un potencial productivo importante y por la sensibilidad de su eje neuroendocrino a las condiciones medioambientales, en particular al fotoperiodo, los parámetros fisiológicos obtenidos en países de la zona templada no son necesariamente los mismos que en el trópico. Entonces, es válido plantear la hipótesis de que podría haber características fisiológicas particulares en animales residentes en zonas tropicales. En éstas, además de que las variaciones en el fotoperiodo son claramente menos

amplias que en la zona templada, las notorias variaciones de temperatura, así como la humedad relativa, generan condiciones climáticas específicas, que podrían provocar cambios en la fisiología reproductiva.

En Colombia hay genotipos equinos de importancia social y económica, como la raza criolla colombiana (CC), acerca de la cual no hay estudios sistemáticos que evalúen las características del útero y de los conceptus en los primeros estadios de la gestación y en particular lo relacionado con los niveles plasmáticos de la P4 (progesterona), que puedan ser usados como valores de referencia en procedimientos diagnósticos en la clínica veterinaria o en investigaciones.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los niveles de P4 plasmática y algunas características ultrasonográficas del conceptus, y del útero, además de los cambios en el diámetro del cuerpo lúteo (CL) durante la gestación temprana de yeguas CC.

4.3 Materiales y métodos

4.3.1 Animales y condiciones medioambientales

Se utilizaron 24 yeguas de la raza CC ubicadas en diferentes zonas rurales del municipio de Pereira (Risaralda), a una altura de 1.411 msnm, 4°49' de latitud norte y 75°42' de longitud oeste; temperatura promedio de 21.8°C, humedad relativa de 75%, precipitación media de 2.210 mm/año y un promedio de brillo solar diario de 13 horas (Ideam 2005). Lo anterior corresponde al llamado piso térmico templado colombiano (Ideam 2001).

La edad de los animales osciló entre 4 y 14 años, así: entre los 4 a 7 años (14 yeguas), de 8 a 11 años (8 yeguas) y de 12 a 14 años (2 yeguas). El peso corporal estuvo entre 320 y 400 Kg y con una buena condición corporal (en promedio 6/9). Todos los animales permanecían estabulados, con una dieta de pasto de corte King grass (*Pennisetum purpureum*), el cual se suministró a voluntad, 4 kg de concentrado al día (12-15% nivel de proteína) y sal a voluntad. Las yeguas incluidas en el estudio se hallaban en buenas condiciones de salud y sin ninguna anormalidad reproductiva, lo cual fue determinado por medio de la inspección visual de los órganos reproductivos externos, palpación rectal y ultrasonografía.

4.3.2 Seguimiento ultrasonográfico

La evaluación secuencial del tracto reproductivo se realizó con un ecógrafo Honda electronics modelo HS 1500V (Honda Electronics Co., Ltd, Japón), equipado con un transductor rectal lineal multifrecuencia de 10, 7,5 y 5 MHz modelo HLV-375M y capacidad de almacenamiento de 60 imágenes. El seguimiento de la vesícula embrionaria se llevó a cabo con 5 MHz y las otras variables con 7,5 Mhz.

Se realizó inseminación artificial (IA) de cada una de las yeguas en el momento más cercano a la ovulación, cuando se encontró, por ultrasonografía, un folículo con características preovulatorias y un edema uterino grado dos a tres; se usó semen refrigerado para la IA procedente de diferentes garañones a una dosis de 500 millones de espermatozoides móviles progresivos. La IA se repitió 48 horas después cuando fue necesario.

Después de detectar la ovulación (día cero) se midió el diámetro del CL cada tercer día hasta el día 9 postovulación y a partir de ese momento diariamente hasta el día 40; durante este lapso también se evaluó el diámetro del cuerpo y de la base del útero del cuerno preñado; así mismo, la presencia de edema uterino. Para cuantificar esto último, se utilizó un sistema de puntuación subjetiva para edema endometrial presentado en la tabla 4-1(Samper y Pycock 2007). El diagnóstico de preñez se basó en la visualización de una vesícula embrionaria por medio de ecografía.

El diámetro, la tasa de crecimiento, la forma y la posición de la vesícula embrionaria, así como la presencia de latido cardiaco se evaluaron por ultrasonografía diariamente desde el día en el cual se identificó el conceptus hasta el día 40 postovulación, momento en el cual finaliza el período embrionario en yeguas. La medición del diámetro de la vesícula embrionaria se realizó a través del eje dorsoventral (Ginther 1995); y la tasa de crecimiento de la vesícula se obtuvo a partir de la diferencia de promedios del diámetro entre dos días consecutivos. El tamaño del embrión dentro de la vesícula se obtuvo al hacer la medición de la longitud cráneo-caudal del embrión y su tasa de crecimiento se determinó de la diferencia de promedios del diámetro entre dos días consecutivos.

Tabla 4-1: Sistema de puntuación subjetiva para edema endometrial en la yegua (Samper y Pycock 2007).

| Puntuación | Descripción |
|------------|---|
| 0 | Sin edema, ecotextura homogénea |
| 1 | Bajo nivel de edema uterino detectable |
| 2 | Moderada cantidad de edema, principalmente en cuerpo uterino |
| 3 | Edema obvio a través de todo el útero |
| 4 | Máxima cantidad normal de edema en útero, a veces poca cantidad de fluido libre en lumen, mayor edema en cuerpo uterino |
| 5 | Edema uterino anormal, irregular y desorganizado |

4.3.3 Cuantificación de los niveles séricos de P4

A cada yegua inseminada se le tomaron muestras de sangre por medio de punción de la vena yugular con el sistema de vacutainer® en tubos sin anticoagulante cada 72 horas desde el día 0 hasta el día 39 postovulación en yeguas gestantes (día 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18,21, 24, 27, 30, 33, 36, 39). La muestra obtenida se centrifugó (3000 r.p.m. durante 15 minutos) con el fin de separar el suero sanguíneo que fue almacenado en viales plásticos para su posterior congelación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. La cuantificación de los niveles de P4 se realizó por la técnica de RIA con el kit comercial Coat-A-Count Progesterona® (Siemens, USA), con una especificidad de 0,02 ng/ml.

4.3.4 Diseño estadístico

Se aplicó la estadística descriptiva con valores de promedio y desviación estándar (DE) para todos los parámetros a evaluar.

4.4 Resultados

Todas las yeguas fueron inseminadas artificialmente en el momento más cercano a la ovulación; en el 62,5 % (15/24) de las yeguas se realizó la IA solamente una vez, en el 33,3 % (8/24) se repitió la IA 48 horas después y en el 4,1 % (1/24) fue necesario repetir la IA 72 horas después; hasta el momento que se detectó la ovulación.

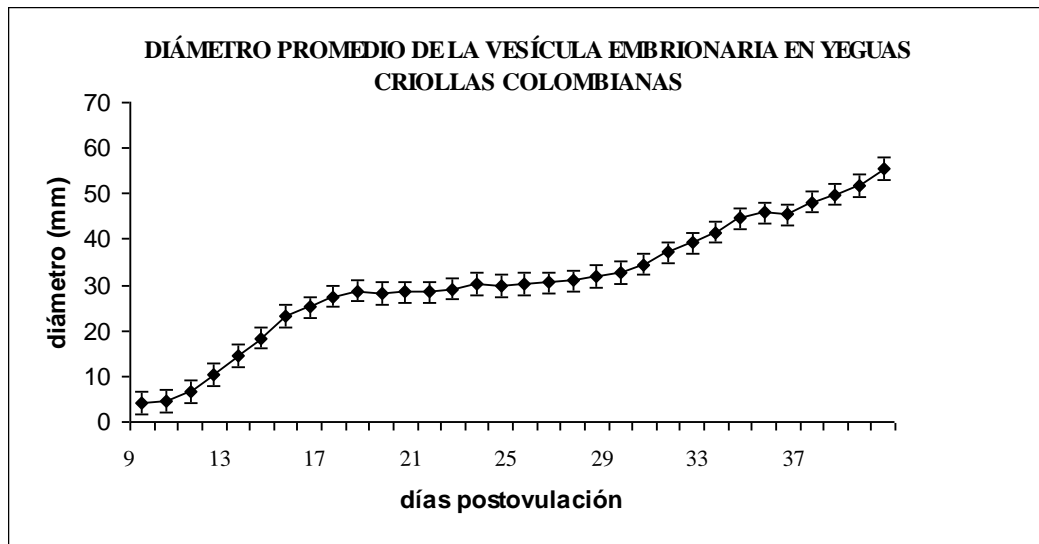
El diagnóstico de preñez se hizo por primera vez mediante ultrasonografía, el día $10,4 \pm 0,8$ (promedio \pm desviación estándar) con un rango de 9 a 12 días; la mayoría de diagnósticos se realizaron el día 11 postovulación (41,6%; 10/24 yeguas). De las 24 yeguas inseminadas artificialmente, en el 100% se realizó diagnóstico de preñez simple.

4.4.1 Características de la vesícula embrionaria

La curva de crecimiento de la vesícula embrionaria se observa en la figura 4-1. Su tasa de crecimiento entre los días 9 y 18 de la gestación fue $2,7 \pm 1,4$ (0,4 – 4,7 mm/día), entre el día 19 y 28, $0,45 \pm 0,4$ (-0,4 – 1,0 mm/día) y del 29 al 40, $2,08 \pm 1,0$ (-0,3 – 3,7 mm/día). El diámetro de la vesícula embrionaria el primer día de observación fue $4,8 \pm 1,7$ mm con un rango de 2,4 a 10,1 mm; el promedio del diámetro durante el periodo embrionario de la gestación fue de $30,8 \pm 13,3$ con un rango de 4,1 a 55,5 mm.

El 50% (12/24 yeguas) de los conceptus se ubicaron en el cuerpo uterino el primer día, 45,8% en la base uterina y 4,17% en el cuerno izquierdo. Durante los primeros días su ubicación cambió constantemente; la fijación del conceptus ocurrió el día $16,8 \pm 1,5$ con un rango de 13 a 19 días. Después de ella, en el 66,6% (16/24 yeguas) la vesícula embrionaria se localizó en la unión útero cornual derecha y en el 33,3% (8/24 yeguas) en la unión útero cornual izquierda. En el 79,1 % (19/24 yeguas) se ubicó en la unión útero cornual ipsilateral al CL primario.

Figura 4-1: Diámetro promedio de la vesícula embrionaria durante los primeros 40 días de la gestación en yeguas criollas colombianas (n=24).



La vesícula embrionaria se observó de forma esférica, ovalada, triangular e irregular durante los primeros 40 días de la gestación. En el 100% de los animales tenía forma esférica desde la primera visualización hasta el día 14 y en el 50% de las yeguas hasta el día 16 postovulación. Entre los días 16 a 24 de la gestación (promedio $17,7 \pm 1,8$) tomó forma triangular y forma

irregular el día $26,7 \pm 3,6$ (20 – 36); a partir de ese momento se observó de forma irregular en el 100% de las yeguas (Figura 4-2).

El embrión pudo verse por primera vez dentro de su vesícula, entre los 18 y 24 días de la gestación ($20,8 \pm 1,7$); inicialmente se encontró ubicado en la parte ventral de la vesícula y permaneció así por $6,8 \pm 1,8$ días (rango de 3 a 10 días), el embrión fue ascendiendo y se ubicó en la parte media de la vesícula el día $27,7 \pm 2,0$ (24 - 33) hasta ubicarse finalmente en la parte dorsal el día $35,3 \pm 2,5$ (30 – 40). En 3 yeguas (12,5 %) el embrión no ascendió hasta la parte dorsal de la vesícula durante los primeros 40 días de la gestación, permaneciendo en la parte media. Se encontraron 2 yeguas (8,3%) en las cuales el embrión después de alcanzar la ubicación dorsal, descendió hacia la parte media y ventral de la vesícula durante los días 38 y 40 de la gestación. La tasa de crecimiento del embrión fue de $0,87 \pm 0,16$ con un rango de 0,4 a 1,3 mm/día y el tamaño promedio del embrión fue de $12,7 \pm 6,0$ mm con un rango de 4,2 a 22,4 mm (Figura 4-3).

La presencia de latido cardiaco del embrión se detectó desde el día $23,9 \pm 1,3$ con un rango de 21 y 26 días en la totalidad de las yeguas. Durante el estudio realizado en las yeguas gestantes, no se detectaron pérdidas gestacionales tempranas, el 100% de los embriones detectados tuvieron un crecimiento y desarrollo normal hasta el día 40 de la gestación (Figura 4-4).

Figura 4-2: Cambio en la forma de la vesícula embrionaria durante los primeros 40 días de la gestación en yeguas criollas colombianas (n=24). Nótese la gran variación en la forma.

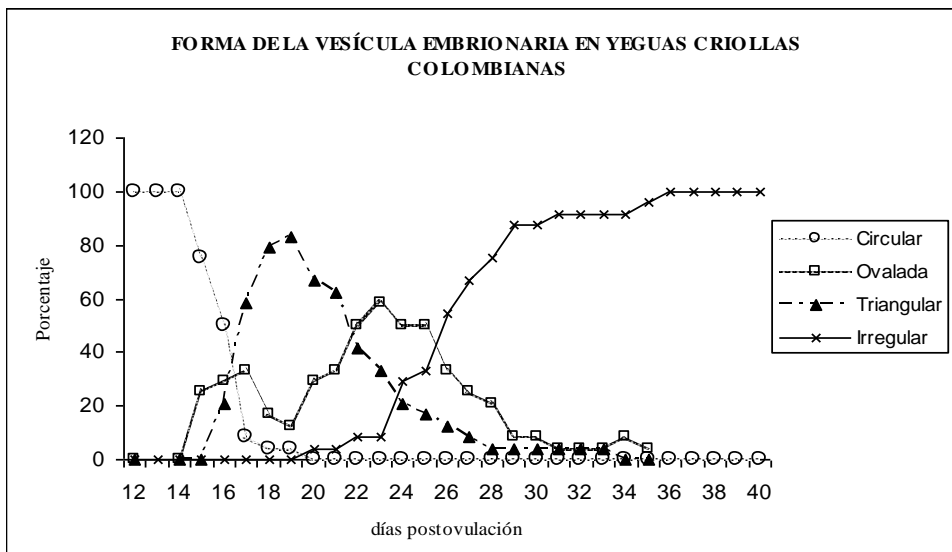
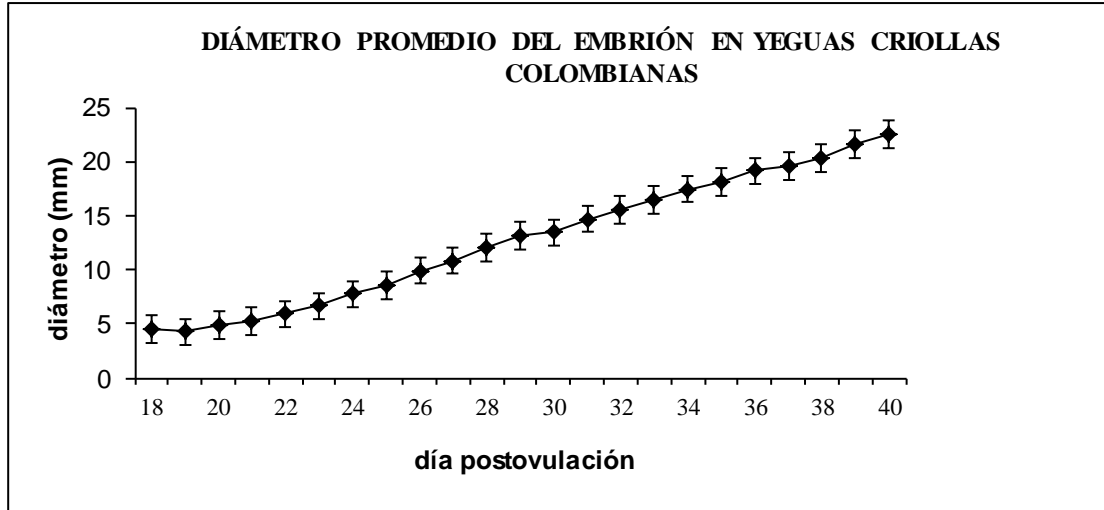


Figura 4-3. Diámetro promedio del embrión durante los primeros 40 días de la gestación en yeguas criollas colombianas (n=24).



4.4.2 Ubicación y diámetro del cuerpo lúteo

La ubicación del CL en las yeguas fue del 62,5% (15/24) en el ovario derecho y 33,3% (8/24) en el ovario izquierdo. Se encontró una yegua (4,1%) con ovulación doble asincrónica con un día de diferencia entre las dos ovulaciones, la cual desarrolló un solo embrión posteriormente. El diámetro del CL durante los primeros 40 días de gestación fue de $20,5 \pm 2,3$ mm con un rango de 18,3 a 28,6 mm y alcanzó su máximo diámetro el día 3 postovulación ($28,6 \pm 6,6$, rango 18,5 – 47,1mm). Solamente se alcanzó a observar un CL accesorio en 3 yeguas (12,5%) a partir del día 32, 37 y 38 de la preñez respectivamente y el diámetro inicial fue de $20,06 \pm 1,1$ con un rango de 18,7 a 20,8 mm; el diámetro promedio del CL accesorio durante los días observados fue $18,9 \pm 2,2$ con un rango de 16,1 a 22,4 mm. Solamente en una de estas yeguas, el CL accesorio tuvo una ubicación ipsilateral al CL primario. En la figura 4-5 se pueden observar los valores obtenidos para el diámetro del CL y la formación del CL accesorio.

Figura 4-4: Imagen ultrasonográfica de la vesícula embrionaria y del embrión durante la gestación temprana en yeguas criollas colombianas. (A) Vesícula embrionaria observada el día 9 postovulación (4,1 mm de diámetro). (B, C) vesícula embrionaria entre los días 17 y 22, cambia su forma circular a triangular (D) vesícula de forma irregular y embrión en la parte ventral, día 21. (E) embrión ubicado en la parte media de la vesícula, se observa la alantoides (línea punteada) y el saco vitelino (flecha), día 27. (F) embrión hacia la parte dorsal de la vesícula, día 32.

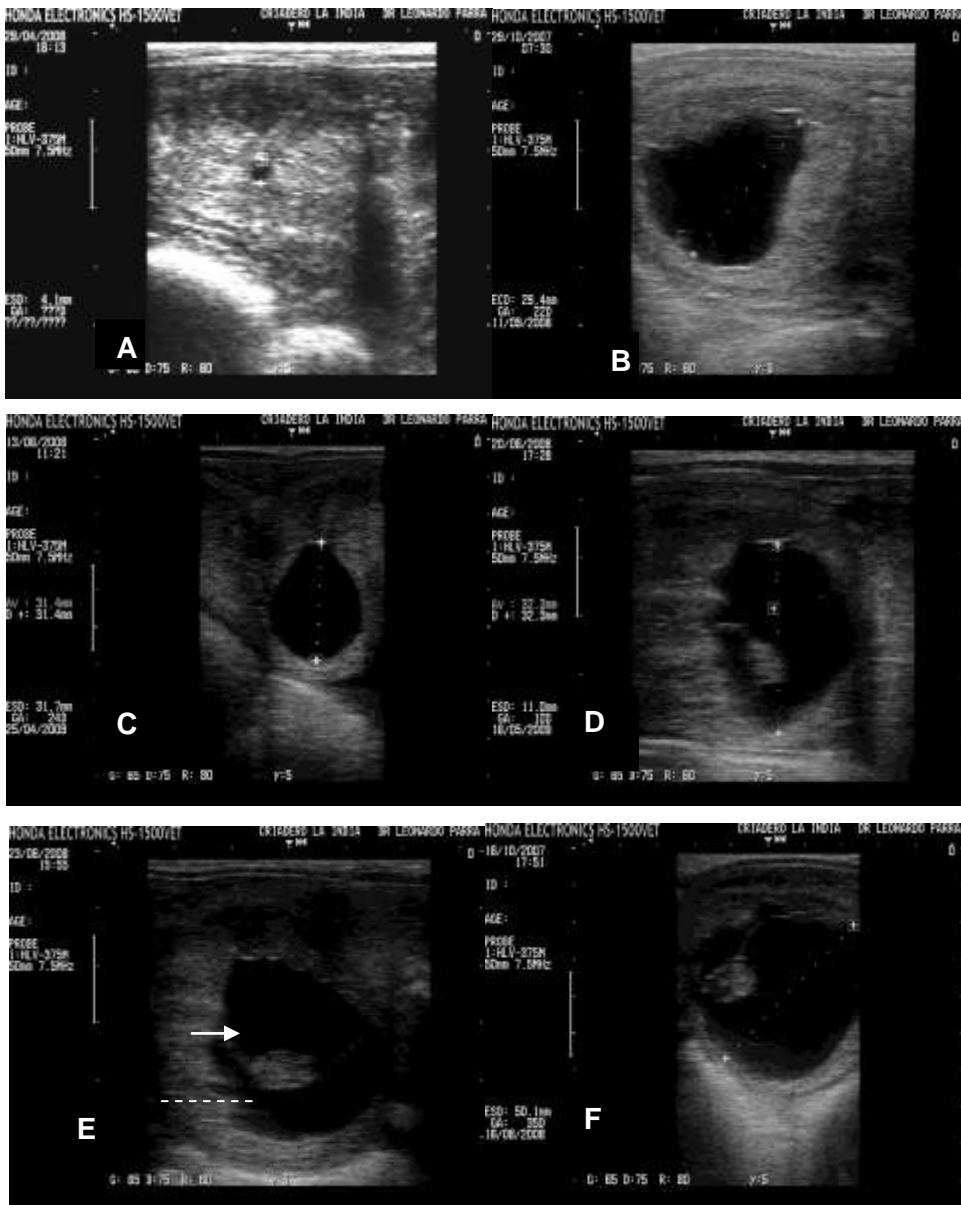
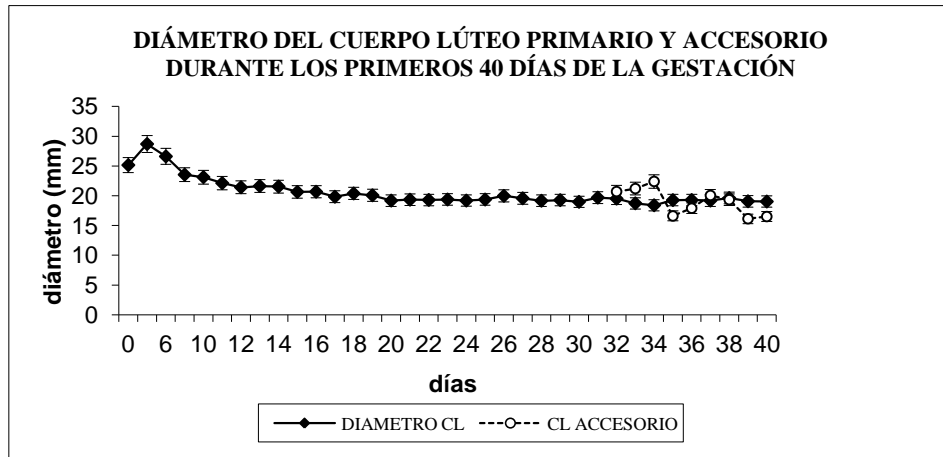


Figura 4-5: Diámetro promedio del cuerpo lúteo primario (n=24) y del cuerpo lúteo accesorio (n=3) durante los primeros 40 días de la gestación en yeguas criollas colombianas.



4.4.3 Diámetro y edema uterino durante la gestación

El edema uterino predominante en las yeguas fue clasificado como de grado cero (0). El día de la ovulación (día 0) se encontraron 2 yeguas con edema grado 2 y una yegua con edema grado 1 y 3, el cual desapareció durante los días posteriores. Los valores promedio del diámetro de la base del útero, del cuerpo uterino y del cuerno uterino (derecho e izquierdo) durante el periodo embrionario de la gestación se observan en la tabla 4-2.

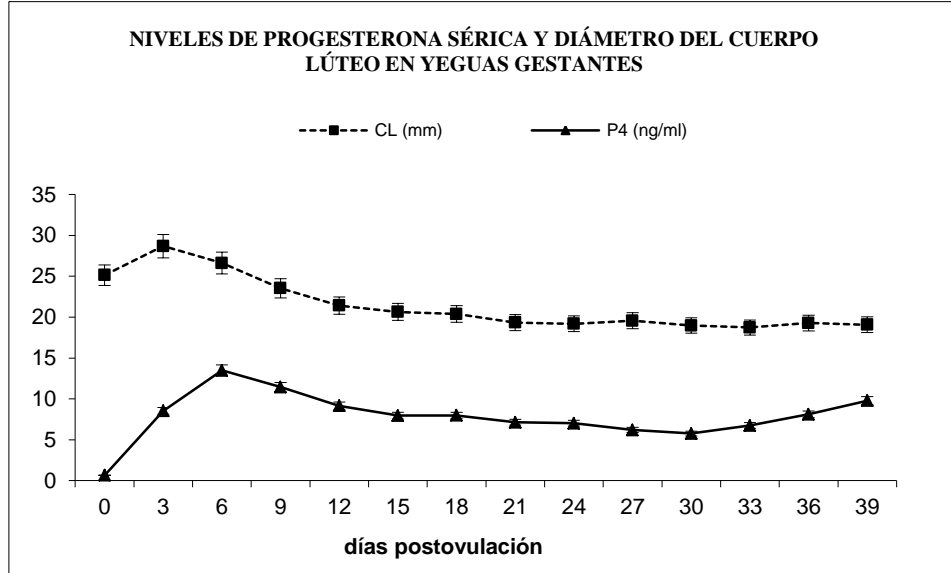
Tabla 4-2: Diámetro \pm desviación estándar del diámetro de la base, del cuerpo y de los cuernos del útero en yeguas gestantes desde el día 0 hasta el día 15 postovulación.

| Diámetro (mm) en diferentes puntos del útero en yeguas gestantes | |
|--|-------------------|
| Base del útero | 34,9 \pm 1,0 mm |
| Cuerpo del útero | 22,7 \pm 0,8 mm |
| Cuerno uterino derecho | 24,9 \pm 1,0 mm |
| Cuerno uterino izquierdo | 24,2 \pm 0,4 mm |

4.4.4 Cuantificación de los niveles séricos de progesterona durante el periodo embrionario de la gestación

La máxima concentración de P4 se alcanzó el día 6 postovulación y fue de 13,5 \pm 4,6 ng/ml (6,0 – 22,9) (Figura 4-6). Los niveles de P4 desde el día 0 hasta el día 15 postovulación fueron de 8,5 \pm 4,3 con un rango de 0,6 a 13,4 ng/ml (Figura 4-6). Hacia el día 15 se encontraron niveles de P4 de 7,9 \pm 3,2 ng/ml (3,5 – 18,9) posteriormente estos valores permanecieron por encima de 5 ng/ml y se observó un incremento en la concentración de P4 relacionado con la aparición de los CL accesorios en algunas yeguas. El coeficiente de variación intraensayo fue de 2,09 %.

Figura 4-6: Niveles de progesterona sérica y diámetro del cuerpo lúteo en yeguas gestantes durante los primeros 40 días de la gestación (n=24).



4.5 Discusión

La vesícula embrionaria puede ser detectada por medio de ultrasonido transrectal, con un transductor de 5 MHz, desde el día nueve (9%, 7/76 animales) con un tamaño de 3 a 5 mm de diámetro, al 11 postovulación (98%, 75/76 animales) en yeguas de la raza Cuarto de Milla y ponis con un diámetro promedio de la vesícula de 6,7 mm (Cuervo-Arango et al, 2009; Ginther 1995); estos datos concuerdan con lo encontrado en este estudio dado que el diagnóstico de preñez se realizó desde el día 9 postovulación con un diámetro de la vesícula embrionaria de $4,1 \pm 1,3$ mm en 16,6% de las yeguas (4/24). La mayoría de diagnósticos de preñez se realizaron el día 11 postovulación (41,6%) cuando se halló una vesícula de $6,5 \pm 2,1$ mm de diámetro.

En el presente estudio el conceptus tuvo un tamaño promedio de $18,4 \pm 3,5$ y $25,1 \pm 3,4$ mm para el día 14 y 16 postovulación, respectivamente; lo cual coincide con lo descrito por otros autores para el día 14 post-ovulación, quienes reportaron valores de 14 a 18 mm y para el día 16, de 22 a 24 mm (Cuervo-Arango et al 2009; Ferraz et al 2001; Ginther 1998; Ginther 1995; Ley et al 1988). Las vesículas embrionarias de tamaños

menores con relación a la edad gestacional son susceptibles de presentar muerte embrionaria y por esto se debe monitorear de forma continua los embriones de poco tamaño (Vanderwall et al 2000; Papa et al 1998; Ginther et al 1985). La importancia de determinar el diámetro de los conceptus radica en que solamente el 21% de las vesículas embrionarias de menor tamaño para la edad gestacional resultan en desarrollo de una preñez simple normal. El 70% de las vesículas de mayor tamaño al reportado para la edad gestacional terminan en la formación de una preñez simple normal, el 13% en gestaciones gemelares y el 17% en fallas de la preñez (Ley et al 1988). Con base en lo planteado, se puede inferir que el desarrollo embrionario de las yeguas preñadas en el presente estudio fue normal.

En este estudio no se encontró asociación entre la edad de las yeguas y el diámetro de la vesícula embrionaria, al igual que en otros reportes donde no se pudo demostrar la relación de la edad de la madre con el tamaño de la vesícula embrionaria (Davies Morel et al 2005). Sin embargo, se ha encontrado que las yeguas con mayor edad tienden a presentar conceptus más pequeños (Ginther et al 1985).

Dentro del útero, el conceptus presentó una fase de crecimiento rápida en la cual, el diámetro de la vesícula embrionaria incrementó gradualmente entre el día 12 y 16 postovulación, posteriormente no se detectó, morfométricamente, un aumento en su crecimiento entre el día 17 y 29 y después tuvo un crecimiento lineal hasta el día 40 de la gestación; estos hallazgos coinciden con el patrón de crecimiento reportado para la vesícula embrionaria en yeguas Pura sangre inglés (PSI) y de la raza conocida como el Caballo de silla americano (Ferraz et al 2001; Allen 2000; Gastal et al 1996; Ginther 1995; Ley et al 1988). A pesar de esta similitud en la curva de crecimiento del conceptus son necesarios más estudios para establecer diferencias en el crecimiento del conceptus entre las yeguas CC y yeguas de razas con mayor tamaño corporal.

Coincidente con lo hallado en otros estudios (Ginther 1995), se observó que la vesícula embrionaria cambió de forma durante su desarrollo, tomando apariencia esférica, ovalada, triangular e irregular, lo cual demuestra su progreso normal. Inicialmente el conceptus se encontró de forma esférica, presentó un aumento de tamaño progresivo, se desplazó constantemente a través del útero y permaneció de esta forma hasta el día 14 postovulación en el 100% de las yeguas. En el presente estudio la fijación ocurrió el día

16,8 ± 1,5 post-ovulación, cuando hay incremento súbito en el tono miometrial que inmoviliza el conceptus y así lo fija en el sitio de la posible implantación en la base de uno de los cuernos uterinos (Stout y Allen 2001; Ginther 1983a; 1983b); en la literatura se reporta que la fijación ocurre el día 17 postovulación (Allen 2000) y en un estudio realizado en yeguas PSI ubicadas en Brasil (Ferraz et al 2001), se encontró la fijación del embrión hacia el día 18 con lo cual se puede concluir que el momento de la fijación en las yeguas CC es similar al reportado en la literatura y un poco más temprano que en las yeguas PSI. También se evidenció un lugar preferencial de ubicación del embrión en el útero, dado que el 66,6% de los conceptus se ubicaron en la unión utero cornual derecha; en equinos se describe que la fijación del embrión ocurre en la porción caudal de alguno de los cuernos y cambia de lado después de cada parto. Se ha reportado que no hay concordancia entre el lado donde ocurre la ovulación y el sitio de fijación del conceptus, y el embrión se fija en el cuerno que presenta un mayor grado de involución después del parto previo (Ginther 1998). En el presente estudio se observó que a medida que el embrión crecía, disminuía el diámetro del cuerno uterino gestante y se encontró una predilección del embrión para fijarse en el cuerno derecho y la mayoría ipsilateral al ovario donde se encontró el CL (79,1%); lo cual no concuerda con lo descrito por algunos autores (Ginther 1998). La fijación del conceptus a la pared uterina posiblemente depende de los niveles sanguíneos de E2 y de P4 y está determinada por un aumento del tono uterino y del tamaño del embrión, y por una disminución del diámetro uterino (Ginther 1998). En los bovinos y ovinos con preñeces simples se encontró que en la mitad posterior del cuerno uterino ipsilateral al CL, hay un mayor desarrollo vascular del endometrio y es un sitio preferencial de ubicación de los embriones (Escobar y Hernández 1996; Gaviria y Hernández 1994).

El diámetro de la vesícula embrionaria aumenta progresivamente hasta el día de la fijación, día 15 en hembras de la raza pony y día 17 en yeguas (Gastal et al 1996). Posteriormente a la fijación, el embrión cambió su forma esférica a triangular, la cual fue la predominante desde el día 17 hasta el día 21 postovulación en el 62% de los casos analizados en este estudio. Este cambio de forma sumado a la pausa en su tasa de crecimiento es atribuible al aumento del tono uterino y al engrosamiento de la pared uterina dorsal (Ginther 1998). Después de este período de crecimiento constante el conceptus tuvo forma irregular y mantuvo así, a partir del día 26 en la mayoría de los

casos; desde el día 29 aumentó nuevamente su tasa de crecimiento. La forma irregular del conceptus es normal y no es indicativa de pérdida de preñez. Este cambio en la forma de la vesícula embrionaria, observada en el presente trabajo, es similar al descrito por diferentes autores (Pycock 2007; Ginther 1998; Gastal et al 1996; Ginther 1995).

El embrión en su vesícula fue visible, en el 25% de las yeguas, el día 21 y en promedio el día $20,8 \pm 1,7$ postovulación, como una estructura ecogénica de forma ovalada situada en la parte ventral de la vesícula embrionaria y al día 24 se observó en la totalidad de las yeguas de este estudio. Este hallazgo coincide con los reportes de la literatura, e indica el desarrollo normal y adecuado de la gestación en el presente estudio; teniendo en cuenta que se ha descrito que cuando no se encuentra embrión hacia el día 24 de la gestación se puede presumir que la preñez no es viable (Pycock 2007; Ginther 1995). Hacia el día 28 de la gestación, el 62% de los embriones se ubicaron en la parte media de la vesícula y se observó el desarrollo de la alantoides, el cual junto con el saco vitelino formaron una línea horizontal visualizada por medio de ultrasonografía; hacia el día 30 de la gestación esta línea se podría encontrar en posición vertical sin representar una futura pérdida gestacional (Pycock 2007). El embrión se desplazó progresivamente hacia la parte dorsal y en más de la mitad de las yeguas se encontró en esta ubicación el día 36 de la gestación y en el 79% hacia el día 40; en este momento también comienza a desaparecer el saco vitelino. Hubo dos embriones que después de alcanzar la posición dorsal descendieron nuevamente a posición medial y ventral el día 40 de la gestación. Aunque no hay reportes que relacionen el descenso del embrión antes de tiempo con pérdidas gestacionales, sí se reportó que el feto desciende hacia la parte ventral del amnios hacia el día 50 de la gestación (Pycock 2007; Ginther 1995). Esto puede tener importancia en la viabilidad de la preñez, ya que el lapso transcurrido entre los días 40 y 50 de la gestación, es crítico para el establecimiento de la placenta y del cordón umbilical, y un mal desarrollo de éstos podría terminar en fallas de la gestación o defectos en el desarrollo del feto.

En el presente estudio el latido cardíaco se detectó por primera vez entre los días 21 y 26 postovulación, antes que lo hallado en otro estudio donde lo reportan entre los días 24 y 25 (Vanderwall et al 2000), como un movimiento rítmico en la parte media del embrión. Es importante detectar el latido cardíaco para determinar si el embrión presente es viable

y para evitar confundir la vesícula embrionaria con un quiste endometrial o acumulación de fluido cuando la vesícula tiene forma irregular.

Se ha descrito que los indicadores ultrasonográficos de pérdida embrionaria son la anomalía en la fijación, la presencia de un anillo ecogénico flotando en un fluido, área ecogénica en la zona del embrión muerto, ausencia de latido cardíaco y disminución gradual de fluidos de la placenta con desorganización de las membranas placentarias (Ginther et al 1985); en estados más tempranos (día 11 a 15), en un gran porcentaje de casos de pérdidas embrionarias no se evidencian signos o indicadores, aunque en algunos casos se puede observar la vesícula flotando en una acumulación de fluidos (Ginther et al 1985). Ninguno de estos indicadores se evidenció en este estudio.

La mayoría de las ovulaciones en las yeguas preñadas se encontraron en el ovario derecho (62,5%), lo cual coincide con la ubicación definitiva preferencial del embrión en la unión útero cornual derecha (66,6%). Se presentó un caso de ovulación múltiple el cual desarrolló una preñez simple. Se ha reportado que solamente el 25,2% de los casos de doble ovulación terminan en preñez múltiple (Davies Morel et al 2005).

Durante el ciclo estral y la gestación, los niveles séricos de P4 pueden ser usados para monitorear el crecimiento, mantenimiento y regresión del CL; y para confirmar una posible preñez (Amer et al 2008); sin embargo, según lo encontrado en el presente estudio, no hay grandes variaciones en los niveles de P4 a partir del día 12 postovulación ni en el diámetro del CL, por lo tanto es posible que estos aspectos no tengan un valor diagnóstico sobre el mantenimiento de la gestación. Los niveles de P4 encontrados en este estudio corresponden a los reportados en la literatura para otras razas de yeguas (Ferraz et al 2001; Papa et al 1998); aunque en otros estudios realizados en yeguas de raza Árabe se encontraron valores de P4 sérica más bajos comparados con los del presente trabajo. Sin embargo se debe tener en cuenta que la P4 es producida por el CL y en diferentes estudios se ha demostrado que el nivel mínimo de P4 para mantener la gestación debe ser mayor o igual a 4 ng/ml (McKinnon y Pycocock, 2007); también se han encontrado niveles de P4 entre 4 y 9 ng/ml del quinto y décimo día postovulación, así como diferencias en las concentraciones de P4 de yeguas gestantes y no gestantes, que confirman la importancia de la P4 en el mantenimiento de la gestación en yeguas

(Sevinga et al. 1999; Allen y Hadley, 1974). A pesar de esto, también se ha descrito que algunas yeguas gestantes pueden presentar niveles bajos de P4 y continuar sin problemas la gestación (McKinnon y Pycoc, 2007); por lo tanto la insuficiencia de P4 no puede basarse en una sola muestra de sangre y demuestra la importancia de hacer un seguimiento a los niveles de P4 de una manera continua en yeguas que han presentado pérdidas gestacionales previas.

Los niveles séricos de P4 aumentaron progresivamente hasta el día 6 post-ovulación, cuando alcanzaron su mayor concentración, y comenzaron a disminuir paulatinamente hasta el día 30 de la preñez; después de esto se observó nuevamente un incremento en los niveles de P4 hasta el día 40, lo cual se relaciona con la aparición del CL accesorio. Este fue detectado solamente en tres de las yeguas preñadas, en promedio hacia el día 35,6 de la gestación y se puede inferir que en estas yeguas se había iniciado la secreción de la gonadotropina coriónica equina (eCG), la cual tiene una función similar a la LH y permite la formación de cuerpos lúteos accesorios (Allen 2001).

4.6 Conclusiones

En este estudio sobre la gestación temprana; el cual es el primero realizado en yeguas CC, por medio de ultrasonografía, se analizó la aparición de la vesícula embrionaria, su tasa de crecimiento y desarrollo; además se analizaron los niveles de P4 sérica y el diámetro del CL.

Se debe medir la vesícula embrionaria desde el momento en que se observa por primera vez y en las siguientes revisiones, ya que ésta debe crecer progresivamente entre una revisión y otra; cuando esto no ocurre, es posible que la yegua presente mortalidad embrionaria.

El diagnóstico de preñez se puede realizar entre el día 9 y 12 postovulación, teniendo en cuenta que se deben hacer chequeos frecuentes para confirmar el crecimiento de la vesícula y evitar confusiones con quistes endometriales. La mitad de las vesículas embrionarias se encuentran en el cuerpo uterino al momento del diagnóstico de preñez.

La tasa de crecimiento de la vesícula embrionaria es más alta durante los primeros 18 días de la gestación y cambia constantemente de ubicación dentro del útero hasta el momento de la fijación entre los días 13 y 19 postovulación.

Entre los días 18 y 24 postovulación es posible observar el embrión en el aspecto ventral de la vesícula embrionaria; el embrión debe ascender de forma paulatina hacia la parte media y finalmente hacia la parte dorsal dentro del amnios.

El latido cardíaco del embrión se puede detectar entre el día 21 y 26 postovulación y es un confiable indicador de viabilidad embrionaria.

Los parámetros de mayor importancia en el diagnóstico y seguimiento de la gestación en la yegua por medio de ultrasonido, son el latido cardíaco, el crecimiento y la ubicación del embrión dentro de la vesícula. No así, la medición de los niveles séricos de P4 y del diámetro del CL; dado que no hay cambios relevantes y tanto la concentración de P4 como el tamaño del CL permanecen relativamente constantes y sin variaciones notorias, posterior al día 12 postovulación y hasta el día 40 de la gestación.

El uso del ultrasonido es útil para realizar el diagnóstico de preñez e imprescindible para hacer el seguimiento de la gestación temprana porque permite monitorear el crecimiento y la viabilidad de la vesícula embrionaria durante este periodo crítico de la preñez. Aunque el ultrasonido puede ayudar a estimar la edad gestacional, lo más conveniente es conocer la fecha de la ovulación para evitar discrepancias entre lo encontrado y los valores de referencia reportados en la literatura en cuanto al desarrollo de la vesícula embrionaria.

4.7 Referencias

Allen WR. 2001. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reproduction*. 121:513–527.

Allen WR. 2000. The physiology of early pregnancy in the mare. *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*. 46:338-354.

Allen WR and Hadley JC. 1974. Blood progesterone concentrations in pregnant and non-pregnant mares. *Equine Veterinary Journal*. 6(2):87-93.

Amer HA, Shawki G, Ismail R. 2008. Profile of steroid hormones during oestrus and early pregnancy in Arabian mares. *Slov Vet Res*. 45(1):25-32.

Cuervo-Arango J, Aguilar J, Newcombe JR. 2009. Effect of type of semen, time of insemination relative to ovulation and embryo transfer on early equine embryonic vesicle growth as determined by ultrasound. *Theriogenology*. 71:1267–1275.

Davies Morel MCG, Newcombe JR, Swindlehursta JC. 2005. The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare. *Theriogenology*. 63:2482–2493.

Escobar F, Hernández A. 1996. Vascularización, crecimiento alantocoriónico y ubicación del embrión durante la implantación en la vaca. *Rev Med Vet Zoot*. 44(1):7-11.

Ferraz LES, Vicente WRR, Ramos PRR. 2001. Progesterone and estradiol 17-b concentration, and ultrasonic images of the embryonic vesicle during the early pregnancy in Thoroughbred mares. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 53(4):1-7.

Gastal MO, Gastal EL, Kot K, Ginther OJ. 1996. Factors related to the time of fixation of the conceptus in mares. *Theriogenology*. 46:1171–1180.

Gaviria MT, Hernández A. 1994. Morphometry of implantation in sheep. I. Trophoblast attachment, modification of the uterine lining, conceptus size and embryo location. *Theriogenology*. 41(5):1139-1149.

Ginther OJ, Bergfelt DR, Leith GS, Scraba ST. 1985. Embryonic loss in mares: incidence and ultrasonic morphology. *Theriogenology*. 24(1):73-86.

Ginther OJ. 1998. Equine pregnancy: physical interactions between the uterus and conceptus. *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*. 44:73-104.

Ginther OJ. 1983a. Fixation and orientation of the early equine conceptus. *Theriogenology*. 19(4):613-623.

Ginther OJ. 1983b. Mobility of the early equine conceptus. *Theriogenology*. 19(4):603-611.

Ginther OJ. 1995. *Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Horses. Book 2*. Madison (WI): Equiservices Publishing.

Griffin PG and Ginther OJ. 1993. Effects of the embryo on uterine morphology and function in mares. *Anim Reprod Sci*. 31:311–329.

Ideam, Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios ambientales de Colombia, 2005. *Atlas Climatológico de Colombia. Parte III, Aspectos Departamentales* [Internet]. Colombia: Centro de documentación e Información científico técnica. [citado 2007 jun 01]. Disponible en: <https://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/Bvirtual/019711.htm>.

Ideam, Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios ambientales de Colombia, 2001. *El medio ambiente en Colombia. Capítulo 7, Ecosistemas* [Internet]. Colombia: Centro de documentación e Información científico técnica. [citado 2008 feb 01]. Disponible en: <https://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/Bvirtual/000001/cap7.pdf>.

Ley WB, Lessard P, Bowen JM. 1988. Variability in equine embryonic vesicle diameter detected by ultrasonography. *Equine Veterinary Sci*. 8(1):72-73.

McKinnon AO and Pycock JF. 2007. Maintenance of Pregnancy. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. *Current Therapy in Equine Reproduction*. Missouri: Saunders Elsevier. p. 389-409.

Papa FO, Lopes MD, Alvarenga MA, Meira C, Luvizotto MCR, Langoni H, Ribeiro EF, Azedo AE, Bomfim AC. 1998. Early embryonic death in mares: clinical and hormonal aspects. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 35(4):170-173.

Pycock JF. 2007. The Pregnant mare: Diagnosis and Management. Pregnancy Diagnosis in the mare. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. *Current Therapy in Equine Reproduction*. Missouri: Saunders Elsevier. p. 335-342.

Samper JC and Pycock JF. 2007. The normal female reproductive system. The normal uterus in estrus. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. *Current Therapy in Equine Reproduction*. Missouri: Saunders Elsevier. p. 32-35.

Sevinga M, Schukken YH, Hesselink JW, Jonker FH. 1999. Relationship between ultrasonic characteristics of the corpus luteum, plasma progesterone concentration and early pregnancy diagnosis in Friesian mares. *Theriogenology*. 52:585-592.

Sharp DC. 2000. The early fetal life of the equine conceptus. *Anim Reprod Sci*. 60-61:679-689.

Spencer TE, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim Reprod Sci*. 82-83:537-550.

Stout TAE and Allen WR. 2001. Role of prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus. *Reproduction*. 121:771-775.

Vanderwall DK, Squires EL, Brinsko SP, McCue PM. 2000. Diagnosis and management of abnormal embryonic development characterized by formation of an embryonic vesicle without an embryo in mares. *J Am Vet Med Assoc*. 217(1):58-63.

5. Progesterona, diámetro del cuerpo lúteo y características del útero en yeguas gestantes y no gestantes

5.1 Resumen

Se utilizaron 30 yeguas de la raza criolla colombiana (CC) de 4 a 14 años de edad, ubicadas en Pereira (Colombia), a 1.411 metros sobre el nivel del mar, temperatura promedio 21.8 °C y humedad relativa de 75 %. Cada yegua se inseminó artificialmente, en el momento más cercano a la ovulación. Se cuantificaron los niveles séricos de P4 por la técnica de radioinmunoanálisis de fase sólida (RIA) y se evaluó el diámetro del cuerpo lúteo (CL), cuerpo uterino, de la base uterina, de los cuernos y la presencia de edema uterino por ultrasonografía; desde el momento de la ovulación hasta el día 15. Los datos fueron analizados usando estadística descriptiva, análisis de varianza, con valores promedio y desviación estándar (DE). La tasa de preñez fue de 80%; es decir que en el 20% de las yeguas (6/30) no se detectó ningún conceptus hacia el día 15 postovulación y presentaron calor pocos días después. No se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) en la edad de las yeguas preñadas y las vacías en relación con la tasa de preñez. No se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre el diámetro del CL de las yeguas que se confirmaron preñadas y las que no, durante los primeros 15 días postovulación. No se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) en los niveles séricos de P4 de las yeguas preñadas y no preñadas durante los primeros 15 días postovulación.

Palabras clave: progesterona, cuerpo lúteo, yeguas criollas colombianas.

Abstract

Thirty Colombia, criollo mares (4 to 14 years old) were used in this study maintained in Pereira (Colombia), at 1.411 m above sea level, with an average temperature of 21.8 °C

and relative humidity of 75%. Each mare was artificially inseminated at a time close to ovulation. Blood samples were taken every 72 hours to measure progesterone (P4) serum levels using a standard solid phase radioimmunoassay technique. The diameter of the corpus luteum (CL), uterine body, base of uterine horns were assessed. Uterine edema was evaluated from ovulation until day 15. Data were analyzed by ANOVA, descriptive statistics, with mean values and standard deviations (SD). The pregnancy rate was 80%. There were no significant age differences ($p>0,05$) between pregnant and non-pregnant mares. There were no significant differences ($p>0,05$) between the diameter of the CL of non-pregnant as compared to pregnant ones during the first 15 days post-ovulation. There were no significant differences ($p >0,05$) in P4 levels of non-pregnant and pregnant mares during the first 15 days post-ovulation.

Keywords: progesterone, corpus luteum, Colombian criollo mares.

5.2 Introducción

Durante las primeras cuatro semanas ocurre la mayor cantidad de pérdidas embrionarias (Sharp 2000; Papa et al. 1998; Meyers et al. 1991), siendo éste un periodo crítico en las yeguas. La mortalidad embrionaria (ME) hace referencia a las pérdidas que ocurren desde el momento de la fertilización hasta el día 40 de la gestación (Madill 2002). Según una revisión de Kanitz et al. (2007) la incidencia de este evento es del 6,5 al 15%; se estimó que una alta proporción (32%) de pérdidas gestacionales en la yegua puede ocurrir entre los días 12 y 39 después de la ovulación y disminuye a medida que avanza la gestación (Meyers et al. 1991); en los estudios hechos con ultrasonografía, es frecuente en casos de ME, ver un conceptus bien desarrollado y aparentemente normal, pero rodeado por un endometrio edematoso (Allen 2000). Otros autores reportan disminución del diámetro del cuerpo lúteo en yeguas no preñadas desde el día 1 hasta el día 9 a diferencia de las yeguas gestantes, en las cuales también se encontraron concentraciones de P4 más altas. De igual forma, la edad y la madurez reproductiva de la hembra son factores importantes para el desarrollo de la gestación; al comparar grupos de yeguas de tres años con yeguas mayores de tres años se observó que estas últimas tienen tasas de preñez más altas (73% vs 57%) (Sevinga et al. 1999).

En Colombia hay genotipos equinos de importancia social y económica, como la raza criolla colombiana (CC), acerca de la cual no hay estudios sistemáticos que evalúen los primeros estadios de la gestación y en particular lo relacionado con el papel que puede jugar los niveles de progesterona en el éxito de la gestación. Así mismo, no hay información sobre la ocurrencia de ME.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la tasa de preñez y comparar los niveles de progesterona plasmática y las características ultrasonográficas y uterinas entre yeguas gestantes y no gestantes durante los primeros 15 días postovulación en yeguas criollas colombianas.

5.3 Materiales y métodos

Se utilizaron 30 yeguas de la raza CC ubicadas en diferentes zonas rurales del municipio de Pereira (Risaralda), a una altura de 1.411 msnm, 4°49' de latitud norte y 75°42' de longitud oeste; temperatura promedio de 21.8°C, humedad relativa de 75%, precipitación media de 2.210 mm/año y un promedio de brillo solar diario de 13 horas (Ideam 2005). Lo anterior corresponde al llamado piso térmico templado colombiano (Ideam 2001).

La edad de los animales osciló entre cuatro y 14 años, distribuidos así: entre los 4 a 7 años (n=17), de 8 a 11 años (n=10) y de 12 a 14 años (n=3). El peso corporal estuvo entre 320 y 400 Kg y con una buena condición corporal (en promedio 6/9). Todos los animales permanecían estabulados, con una dieta de pasto de corte King grass (*Pennisetum purpureum*), el cual se suministró a voluntad, 4 kg de concentrado al día (12-15% nivel de proteína) y sal a voluntad. Las yeguas incluidas en el estudio se hallaban en buenas condiciones de salud y sin ninguna anomalía reproductiva, lo cual fue determinado por medio de la inspección visual de los órganos reproductivos externos, palpación rectal y ultrasonografía del tracto reproductivo.

La evaluación secuencial del tracto reproductivo se realizó con un ecógrafo Honda electronics modelo HS 1500V (Aichi, Japón), equipado con un transductor rectal lineal multifrecuencia de 10, 7.5 y 5 MHz modelo HLV-375M y capacidad de almacenamiento de 60 imágenes. El seguimiento de la vesícula embrionaria se llevó a cabo con 5 MHz y las otras variables con 7.5 Mhz.

Se realizó inseminación artificial (IA) de cada una de las yeguas en el momento más cercano a la ovulación, cuando se encontró, por ultrasonografía, un folículo con características preovulatorias y un edema uterino grado dos a tres; se usó semen refrigerado para la IA procedente de diferentes garañones a una dosis de 500 millones de espermatozoides móviles progresivos. La inseminación se repitió 48 horas después cuando fue necesario. Los casos donde no se encontró una vesícula embrionaria al día 15 postovulación, fueron reconocidos como ausencia de preñez.

Después de detectar la ovulación (día cero) se midió el diámetro del cuerpo lúteo cada tercer día hasta el día 9 postovulación y a partir de ese momento, diariamente hasta el día 15 postovulación, durante este lapso también se evaluó el diámetro del cuerpo del útero, de la base del útero y del cuerno, y la presencia de edema uterino; para cuantificar estos datos se utilizó un sistema de puntuación subjetiva para edema endometrial (Pycock 2007; Tabla 5-1). El diagnóstico de preñez se realizó en el momento que se visualizó una vesícula embrionaria por medio de ecografía.

En las yeguas inseminadas se tomaron muestras de sangre por medio de punción de la vena yugular con el sistema de vacutainer® cada 72 horas desde el día 0 hasta el día 15 postovulación. La muestra obtenida se centrifugó (3000 r.p.m. durante 15 minutos) con el fin de separar el suero sanguíneo que fue almacenado en viales plásticos para su posterior congelación a -20 °C. La cuantificación de los niveles de P4 se realizó por la técnica de RIA con el kit comercial Coat-A-Count Progesterona® (Siemens, Los Angeles, CA, USA), con una especificidad de 0,02 ng/ml.

Tabla 5-1: Sistema de puntuación subjetiva para edema endometrial en la yegua (Tomado de Pycock 2007).

| Puntuación | Descripción |
|------------|---|
| 0 | Sin edema, ecotextura homogénea |
| 1 | Bajo nivel de edema uterino detectable |
| 2 | Moderada cantidad de edema, principalmente en cuerpo uterino |
| 3 | Edema obvio a través de todo el útero |
| 4 | Máxima cantidad normal de edema en útero, a veces poca cantidad de fluido libre en lumen, mayor edema en cuerpo uterino |
| 5 | Edema uterino anormal, irregular y desorganizado |

5.3.1 Análisis estadístico

Se aplicó la estadística descriptiva con valores de promedio y desviación estándar (DE) para todos los parámetros a evaluar. Se realizó análisis de varianza (ANOVA) para establecer diferencias entre la edad de las yeguas gestantes y no gestantes; entre el diámetro del CL, del cuerpo uterino, de la base del útero y del cuerno uterino (derecho e izquierdo) en yeguas gestantes y no gestantes durante los primeros 15 días postovulación y entre los niveles de P4 entre yeguas gestantes y no gestantes.

La tasa de preñez se estimó de la siguiente manera:

- Tasa de preñez = número de yeguas preñadas/ número de yeguas servidas x 100

5.4 Resultados

Todas las yeguas fueron inseminadas artificialmente en el momento más cercano a la ovulación; en el 60 % (18/30) de las yeguas se realizó la IA solamente una vez, en el 36,6 % (11/30) se repitió la IA 48 horas después y en el 3,3 % (1/30) fue necesario repetir la IA 72 horas después; hasta el momento que se detectó la ovulación. La tasa de preñez en este estudio fue de 80%; esto quiere decir que de las 30 yeguas inseminadas, quedaron preñadas 24. En el 20% de las yeguas restantes (6/30) no se detectó preñez. De las seis yeguas que no quedaron preñadas, tres fueron inseminadas una vez y ovularon; en las otras fue necesario realizar la IA nuevamente, 48 horas después, hasta que se presentó la ovulación; en estas yeguas no se detectó ningún conceptus hacia el día 15 postovulación y regresaron al calor días después.

Las yeguas que retornaron al calor estaban entre los 4 y 14 años de edad, solamente una de ellas tenía 14 años y todas tuvieron un ciclo estral previo de características normales, aunque dos de ellas presentaron acumulación de líquido en el útero después de la IA y edema uterino (grado 1 a 3) durante los 15 días después de la inseminación artificial. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la edad de las yeguas preñadas y las no preñadas; la edad promedio fue $7,1 \pm 2,6$ (4 a 12 años) y $8 \pm 3,5$ (4 a 14 años) en yeguas preñadas y no preñadas, respectivamente (Figura 5-1).

5.4.1 Ubicación y diámetro del cuerpo lúteo

La ubicación del CL en las yeguas preñadas fue del 63% (15/24) en el ovario derecho y 33,3% (8/24) en el ovario izquierdo. En las yeguas no preñadas, el CL se encontró en un 50% (3/6) en el ovario derecho y el 50% (3/6) restante en el ovario izquierdo. El diámetro del CL en yeguas gestantes durante los primeros 40 días de gestación fue de $20,5 \pm 2,3$ mm con un rango de 18,3 a 28,6 mm y alcanzó su máximo diámetro el día 3 postovulación ($28,6 \pm 6,6$, rango 18,5 – 47,1mm). En las yeguas no gestantes el diámetro fue de $22,1 \pm 3,6$ con un rango de 16,6 a 27,6 mm. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre el diámetro del CL de las yeguas que quedaron preñadas y las que no, durante los primeros 15 días postovulación. En la figura 5-2 se pueden observar los valores obtenidos para el diámetro del CL en yeguas gestantes y no gestantes.

Figura 5-1: Rango de edades de las yeguas usadas en el estudio; 4 a 7 años (17n), 8 a 11 (10n), 12 a 14 (3n) y edad promedio en las yeguas gestantes y no gestantes ($p > 0,05$).

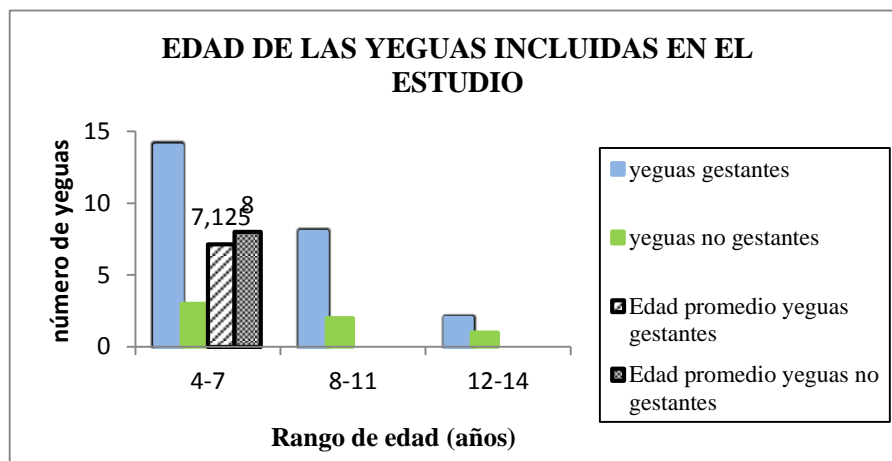
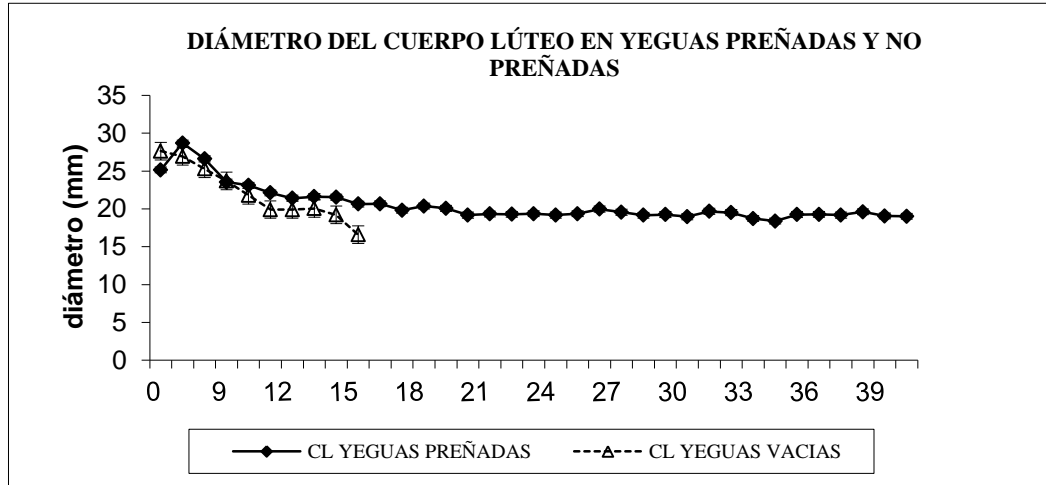


Figura 5-2: Diámetro promedio del cuerpo lúteo en yeguas preñadas durante los primeros 40 días de la gestación (n=24) y en yeguas no preñadas hasta el día 15 postovulación (n=6).



5.4.2 Diámetro y edema uterino durante la gestación

El edema uterino más predominante en las yeguas preñadas fue clasificado como de grado cero (0), aunque el día de la ovulación (día 0) se encontraron 2 yeguas con edema grado 2 y una yegua con edema grado 1 y 3, el cual desapareció durante los días posteriores. Hubo dos yeguas no preñadas que permanecieron con edema uterino durante los 15 días que fueron evaluadas; estas yeguas presentaron edema grado 1 durante los primeros 13 días postovulación y cambiaron a edema 2 y 3 posteriormente.

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el diámetro del cuerpo uterino, de la base del útero y del cuerno uterino (derecho e izquierdo) al comparar los respectivos valores obtenidos de las yeguas gestantes con los de las no gestantes, entre el día 0 y el día 15 postovulación (Tabla 5-2).

Tabla 5-2: Diámetro \pm desviación estándar del diámetro de la base, del cuerpo y de los cuernos del útero en yeguas gestantes y no gestantes desde el día 0 hasta el día 15 postovulación ($p < 0,05$).

| | Yeguas preñadas | Yeguas no preñadas |
|--------------------------|-----------------|--------------------|
| Base del útero | 34,9 \pm 1,0 | 39,1 \pm 1,6 |
| Cuerpo del útero | 22,7 \pm 0,8 | 24,1 \pm 0,7 |
| Cuerno uterino derecho | 24,9 \pm 1,0 | 27,7 \pm 1,2 |
| Cuerno uterino izquierdo | 24,2 \pm 0,4 | 27,6 \pm 1,2 |

5.4.3 Cuantificación de los niveles séricos de progesterona

La máxima concentración de P4 se alcanzó el día 6 postovulación y fue de 13,5 \pm 4,6 ng/ml (6,0 – 22,9) y de 13,4 \pm 4,2 ng/ml (7,5 – 17,8) en yeguas gestantes y las no gestantes, respectivamente (Figura 5-3). Los niveles de P4 en las yeguas no gestantes desde el día 0 hasta el día 15 postovulación fueron de 6,79 \pm 4,6 ng/ml con un rango de 0,8 a 13,3; y en las yeguas gestantes fueron de 8,5 \pm 4,3 con un rango de 0,6 a 13,4 ng/ml ($p > 0,05$) (Figura 5-4). En las yeguas gestantes se encontró hacia el día 15 niveles de P4 de 7,9 \pm 3,2 ng/ml (3,5 – 18,9). En las yeguas no gestantes el nivel de P4 el día 15 fue 3,3 \pm 3,9 con un rango de 0,07 a 12,22 ng/ml. El coeficiente de variación intraensayo fue de 2,09 %.

Figura 5-3: Niveles de progesterona sérica en yeguas preñadas durante los primeros 40 días de la gestación (n=24) y en yeguas no preñadas hasta el día 15 postovulación (n=6).

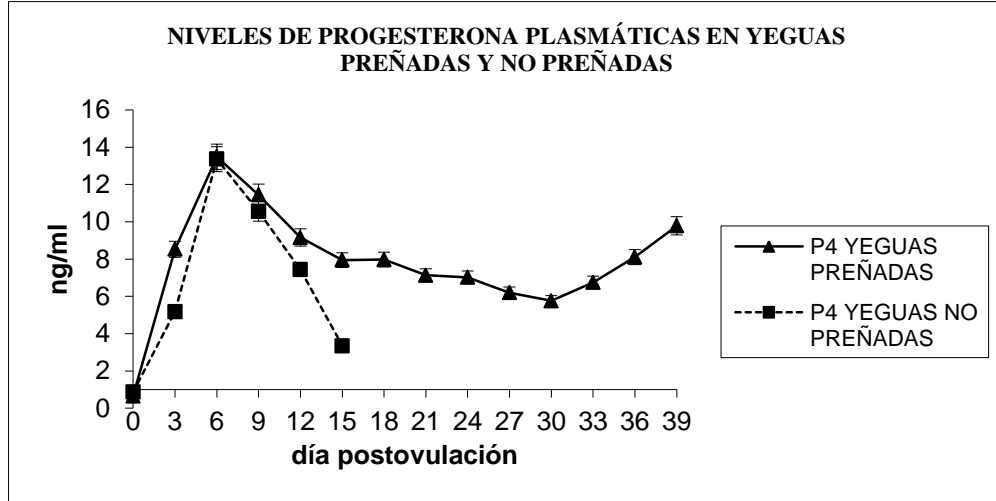
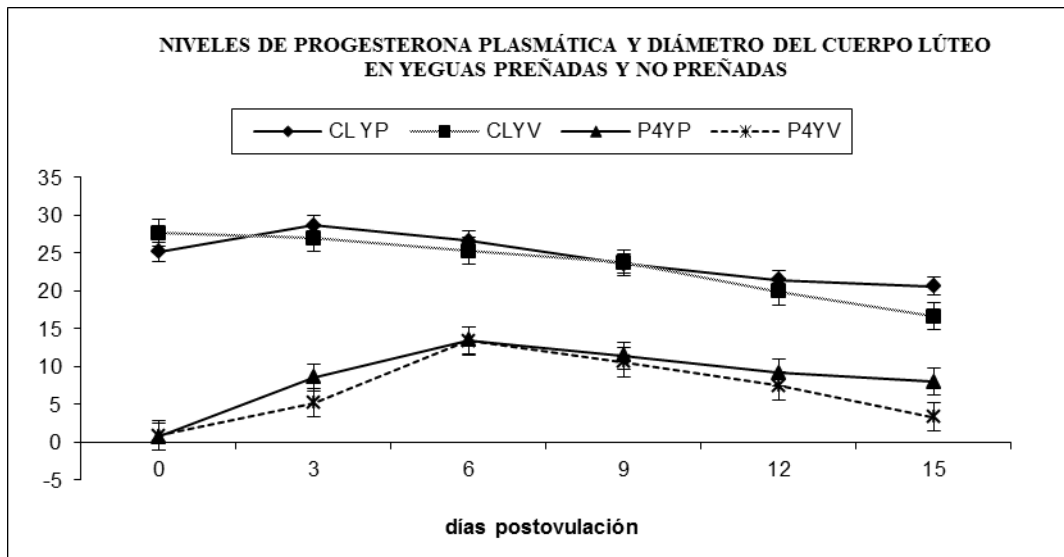


Figura 5-4: Niveles de progesterona sérica y diámetro del cuerpo lúteo en yeguas preñadas (YP; n=24) y en yeguas no preñadas (YNP; n=6) hasta el día 15 postovulación ($p > 0,05$).



5.5 Discusión

Se encontró una diferencia en el diámetro en diferentes puntos del útero, donde se observó en promedio un diámetro de la base, del cuerpo y de los cuernos uterinos menor en las yeguas preñadas que en las no preñadas. Esto coincide con el estudio de Griffin y Ginther (1991), quienes encontraron que el diámetro de los cuernos uterinos en yeguas no gestantes era mayor y aumentaba con el tiempo comparado con las gestantes, lo cual se explica por el retorno al calor de las yeguas que no quedaron preñadas y coincide con la presencia de edema uterino característico de yeguas en estro. Así mismo, la disminución del diámetro en yeguas preñadas coincide con la fijación del embrión (termina el movimiento del embrión), evento en el cual ocurre un incremento en la resistencia intraluminal, desarrollo del tono uterino y disminución del diámetro uterino (Allen 2000; Griffin y Ginther 1993).

Durante el ciclo estral y la gestación, la P4 es producida por el CL y sus metabolitos están en la circulación periférica, lo cual puede ser usado para monitorear el crecimiento, mantenimiento y regresión del cuerpo lúteo; y como una herramienta para confirmar una posible preñez (Amer et al. 2008). En este estudio no se encontraron diferencias significativas entre el diámetro del CL de yeguas preñadas y no preñadas durante los primeros 15 días postovulación ni en los niveles séricos de P4. Esto concuerda con estudios en los que no se halló relación entre el diámetro del CL y el mantenimiento de la gestación (Papa et al. 1998), ni diferencias entre las concentraciones de P4 de yeguas preñadas y yeguas con pérdida embrionaria, con lo cual, posiblemente se podría descartar la insuficiencia luteal primaria como causa de mortalidad embrionaria en estos casos analizados. Aunque no hay reportes de una caída drástica en los niveles de P4 sérica en yeguas que presentan mortalidad embrionaria, sí se observa en estos casos valores promedio de P4 más bajos al comparar con animales que mantienen la gestación (Allen y Hadley 1974).

Los niveles de P4 encontrados en este estudio corresponden a los reportados en la literatura para otras razas de yeguas (Ferraz et al. 2001; Papa et al. 1998); aunque en otros estudios realizados en yeguas de raza Árabe se encontraron valores de P4 sérica más bajos comparados con los de este estudio. Amer et al. (2008) hallaron diferencias entre los valores de P4 de yeguas preñadas y de las no preñadas; en yeguas de raza

Frisón hubo diferencias en los niveles de P4 y el diámetro del CL el día 8 y 9 postovulación entre yeguas preñadas y no preñadas (Sevinga et al. 1999). En este último caso, podría inferirse que hubo una deficiencia luteal.

Se debe tener en cuenta que posteriormente a la ovulación los valores de la concentración de P4 sérica aumentan dentro de las 24 a 36 horas y permanecen elevados hasta el día 14 o 15 postovulación; en el caso de yeguas que no resultan preñadas los niveles de P4 disminuyen rápidamente hasta alcanzar valores bajos similares a los del periodo de estro (Amer et al. 2008). Por esto en este caso se encontraron valores de P4 muy similares en las yeguas preñadas y no preñadas durante los primeros días postovulación, pero el día 15 si se observó una diferencia en la concentración de P4 en las yeguas preñadas que en las no preñadas ($7,8 \pm 3,4$ vs. $3,3 \pm 4,9$ ng/ml). Esta disminución de P4 después del día 14 postovulación puede deberse a la luteólisis que tiene lugar cuando no hay presencia del embrión.

En general, las diferencias en los niveles sanguíneos de P4 entre yeguas gestantes y no gestantes deben ser mayores según el lapso que haya transcurrido desde la muerte del embrión y el momento en el cual se hizo la toma de la muestra correspondiente. Por lo tanto, las diferencias (o ausencia de ellas) halladas en los dos estados reproductivos mencionados por diferentes autores, deben analizarse en esta perspectiva.

En el presente estudio, el 20% (6/30) de las yeguas no quedaron preñadas, lo cual se determinó por la ausencia de vesícula embrionaria durante los primeros 15 días postovulación; estos animales estaban dentro de las condiciones ideales y similares a las otras incluidas en el estudio y no se determinó la posible causa de falla en la preñez o mortalidad embrionaria; aunque las yeguas que presentaron acumulación de líquido eran susceptibles de presentar endometritis. Se debe tener en cuenta que existen factores intrínsecos, extrínsecos y embrionarios que pueden ser la causa de esta ME (Kanitz et al. 2007; Stout 2008). Los factores intrínsecos son de origen materno y pueden ser trastornos hormonales o inmunológicos, enfermedad endometrial, infecciones, edad y lactancia (Madill 2002). Entre los factores extrínsecos se pueden incluir condiciones de estrés, calidad nutricional, clima, calidad y procesamiento del semen; y entre los factores embrionarios anomalías cromosómicas (Vanderwall y Newcombe 2007). En este estudio,

en el caso de algunas yeguas se podría atribuir a la presencia de edema uterino postinseminación, la cual puede deberse a endometritis postmonta, una de las principales causas de ME en yeguas y se ha encontrado con una alta incidencia (18,2%) entre los días 11 a 21 postovulación (Papa et al. 1998; Ball 1988). Esta inflamación ocasiona un ambiente uterino inadecuado y si la inflamación persiste hasta el día 5 postovulación, momento en el cual el embrión entra al útero, el medioambiente uterino puede ser incompatible con la preñez predisponiendo a infección del embrión o a liberación de prostaglandina F2alfa (PGF2 α) por parte del endometrio afectado causando luteólisis (Watson 2000). Teniendo en cuenta este hallazgo sería útil en estudios posteriores realizar citología y cultivo del líquido uterino para determinar la presencia de infecciones que puedan afectar la tasa de preñez; y adicionalmente análisis más específicos para determinar trastornos endocrinos, incompatibilidad inmunológica y ausencia de factores de crecimiento necesarios para el desarrollo del conceptus y para la implantación. Otro factor a tener en cuenta en este estudio es la calidad del semen y su procesamiento, debido a que las yeguas fueron inseminadas con semen proveniente de diferentes reproductores.

5.6 Referencias

Allen WR and Hadley JC. 1974. Blood progesterone concentrations in pregnant and non-pregnant mares. *Equine Veterinary Journal*. 6(2):87-93.

Allen WR. 2000. The physiology of early pregnancy in the mare. *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*. 46:338-354.

Amer HA, Shawki G and Ismail R. 2008. Profile of steroid hormones during oestrus and early pregnancy in Arabian mares. *Slov Vet Res*. 45(1):25-32.

Ball BA. 1988. Embryonic loss in mares. Incidence, possible causes and diagnostic considerations. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 4(2):263-290.

Ferraz LES, Vicente WRR and Ramos PRR. 2001. Progesterone and estradiol 17- β concentration, and ultrasonic images of the embryonic vesicle during the early pregnancy in Thoroughbred mares. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 53(4).

Griffin PG and Ginther OJ. 1991. Dynamics of uterine diameter and endometrial morphology during the estrous cycle and early pregnancy in mares. *Anim Reprod Sci*. 25:133-142.

Griffin PG and Ginther OJ. 1993. Effects of the embryo on uterine morphology and function in mares. *Anim Reprod Sci* 31:311–329.

Ideam, Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios ambientales de Colombia, 2005. Atlas Climatológico de Colombia. Parte III, Aspectos Departamentales [Internet]. Colombia: Centro de documentación e Información científico técnica. [citado 2007 jun 01]. Disponible en: <https://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/Bvirtual/019711.htm>.

Ideam, Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios ambientales de Colombia, 2001. El medio ambiente en Colombia. Capítulo 7, Ecosistemas [Internet]. Colombia: Centro de

documentación e Información científico técnica. [citado 2008 feb 01]. Disponible en: <https://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/Bvirtual/000001/cap7.pdf>.

Kanitz W, Schneider F, Hoppen, H-O, Unger C, Nürnberg G and Becker F. 2007. Pregnancy rates, LH and progesterone concentrations in mares treated with a GnRH agonist. *Anim Reprod Sci.* 97:55–62.

Madill S. 2002. Reproductive considerations: mare and stallion. *Vet Clin Equine.* 18: 591–619.

Meyers PJ, Bonnett BN, McKee SL. 1991. Quantifying the occurrence of early embryonic mortality on three equine breeding farms. *Can Vet J.* 32:665-672.

Papa FO, Lopes MD, Alvarenga MA, Meira C, Luvizotto MCR, Langoni H, Ribeiro EF, Azedo AE, Bomfim AC. 1998. Early embryonic death in mares: clinical and hormonal aspects. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 35(4):170-173.

Pycock JF. 2007. The Pregnant mare: Diagnosis and Management. Pregnancy Diagnosis in the mare. In: *Current Therapy in Equine Reproduction.* Missouri: Saunders Elsevier. p. 335-342.

Sevinga M, Schukken YH, Hesselink JW, Jonker FH. 1999. Relationship between ultrasonic characteristics of the corpus luteum, plasma progesterone concentration and early pregnancy diagnosis in Friesian mares. *Theriogenology.* 52:585-592.

Sharp DC. 2000. The early fetal life of the equine conceptus. *Anim Reprod Sci.* 60–61:679–689.

Vanderwall DK and Newcombe JR. 2007. The pregnant mare: diagnosis and management. Early embryonic loss. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. *Current Therapy in Equine Reproduction.* Missouri: Saunders Elsevier. p.374.

Watson ED. 2000. Post-breeding endometritis in the mare. *Animal Reproduction Science.* 60 – 61: 221–232.

6. Conclusiones y recomendaciones

6.1 Conclusiones

Se determinó que la duración del CE de un grupo de yeguas CC en la zona rural de Pereira fue de $21,5 \pm 1,8$ días y del estro de $5,9 \pm 1,8$ días. El tamaño promedio al momento de la ovulación del folículo preovulatorio fue de $44,3 \pm 4,8$ mm, con una tasa de crecimiento promedio de $1,6 \pm 0,4$ mm/día para el FD y de $0,67 \pm 0,4$ mm/día para el FS. La tasa de crecimiento del FD disminuyó aproximadamente un día antes que ocurriera la ovulación.

Aunque durante todo el CE se evidenció actividad folicular, ésta fue menor durante la fase de diestro temprano. Se evidenció una sola onda de crecimiento folicular en todas las yeguas analizadas, con la presencia de un FD que terminó en ovulación. Se encontró que hay más ovulaciones por el ovario derecho que por el ovario izquierdo en los dos CE analizados. Solamente hubo un caso de ovulación doble en una yegua de 5 años de edad, la cual se presentó en un solo CE de los dos estudiados; esto puede indicar que la yegua CC tiende a presentar ovulaciones simples comparada con otras razas.

Para aumentar la eficiencia reproductiva en un criadero o en cada animal se deben tener en cuenta diferentes variables en conjunto como son el tamaño folicular a la ovulación, el edema uterino, y la disposición de la yegua al caballo. El grado de edema uterino es esencial para determinar el estro; además cuando se encuentra un folículo de gran tamaño y el edema alcanza un nivel máximo y disminuye días después puede indicar que ocurrirá la ovulación y es un momento óptimo para llevar a cabo la inseminación artificial o monta natural.

Los niveles plasmáticos de P4 en la yegua CC son similares a los descritos en la literatura en otras razas y para países estacionales o en diferentes zonas del trópico

colombiano. Los cambios en la estructura y morfología del CL reflejan su desarrollo funcional, por lo cual se considera importante evaluarlo morfológicamente para diagnosticar posibles anomalías, como complemento a la cuantificación de los niveles séricos de P4.

La variación de los resultados en cuanto a diámetro del CL y niveles séricos de P4 es muy amplia; por esto siempre se debe recordar la individualidad en el comportamiento reproductivo, porque existen factores genéticos, medioambientales y nutricionales que pueden influenciar y hacer variar la fisiología reproductiva. Por esto es importante realizar seguimientos más detallados y continuos, llevar registros individuales para conocer las características fisiológicas de cada animal.

En este estudio sobre la gestación temprana; el cual es el primero realizado en yeguas CC, por medio de ultrasonografía, se analizó la aparición de la vesícula embrionaria, su tasa de crecimiento y desarrollo; además se analizaron los niveles de P4 plasmática y su relación con el CL.

Se debe medir la vesícula embrionaria desde el momento en que se observa por primera vez y en las siguientes revisiones, ya que ésta debe crecer progresivamente entre una revisión y otra; cuando esto no ocurre, es posible que la yegua presente mortalidad embrionaria. El diagnóstico de preñez se puede realizar entre el día 9 y 12 postovulación, teniendo en cuenta que se deben hacer chequeos frecuentes para confirmar el crecimiento de la vesícula y evitar confusiones con quistes endometriales.

Los parámetros de mayor importancia en el diagnóstico y seguimiento de la gestación en la yegua por medio de ultrasonido, son el latido cardíaco, el crecimiento y la ubicación del embrión dentro de la vesícula. No así, la medición de los niveles plasmáticos de P4 y del diámetro del CL; dado que no hay cambios relevantes y tanto la concentración de P4 como el tamaño del CL permanecen relativamente constantes y sin variaciones notorias, posterior al día 12 postovulación y hasta el día 40 de la gestación. La formación de cuerpos lúteos accesorios es característica durante la gestación y deben ser evaluados, sin embargo su aparición ocurre en los últimos días del período embrionario y es variable en cada yegua.

En este estudio no se encontró relación entre el diámetro del CL y el mantenimiento de la gestación ni diferencias entre las concentraciones de P4 de las yeguas preñadas y las yeguas que no quedaron preñadas.

6.2 Recomendaciones

La variación de los resultados entre los animales es muy amplia, por esto siempre se debe recordar la individualidad en el comportamiento reproductivo de cada animal. Siempre se debe tener en cuenta que existen factores de cada individuo, genéticos, medioambientales y nutricionales que pueden influenciar y hacer variar la fisiología reproductiva. Por esto es importante realizar seguimientos más detallados y continuos, llevar registros individuales que permiten conocer el comportamiento de cada animal y poder determinar la duración individual del CE en cada animal.

Es necesario realizar más estudios en yeguas criollas colombianas en diferentes condiciones medioambientales para establecer los factores que podrían afectar el funcionamiento reproductivo de cada una de las yeguas; además sería importante evaluar otras hormonas involucradas durante el CE y estimar el área que ocupan las células del CL, los receptores para LH en las mismas y posibles correlaciones con el peso y diámetro del CL. Los valores aquí reportados pueden ser el punto de partida para el establecimiento de valores de referencia de utilidad clínica. También en una futura investigación sería interesante observar si hay correlación del flujo sanguíneo del CL, midiendo con ultrasonografía Doppler, con los niveles séricos de P4.

El uso del ultrasonido es imprescindible para realizar el análisis del CE y también para hacer el diagnóstico y seguimiento de la gestación temprana porque permite monitorear el crecimiento y la viabilidad de la vesícula embrionaria durante este periodo crítico de la preñez. Aunque el ultrasonido puede ayudar a estimar la edad gestacional, lo más conveniente es conocer la fecha de la ovulación para evitar discrepancias entre lo encontrado y los valores de referencia reportados en la literatura en cuanto al desarrollo de la vesícula embrionaria.

A. Anexo: Identificación y datos de cada yegua

Yegua: _____ Identificación (#): _____

Raza: _____ Color: _____

Modalidad: _____ Edad: _____ Peso: _____

Criadero: _____ Ciudad: _____

Estado reproductivo: _____

Dieta: _____

Vacunaciones: _____

Vermifugaciones: _____

Historia reproductiva: _____

Hallazgos obtenidos mediante palpación y ultrasonido inicial:

B. Anexo: Recolección de datos durante el seguimiento ultrasonográfico del ciclo estral

| ESTUDIO DE CARACTERIZACION DEL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA CRIOLLA COLOMBIANA | | | | | | | | | | | |
|--|----|---------|---------------------------------|----|---------|----------------------|----|----|----------------------------|----|---------------|
| YEGUA | | | | | | COLOR | | | | | |
| EDAD | | | | | | | | | | | |
| PRIMER CICLO ESTRAL | | | | | | | | | | | |
| Día | OD | | | OI | | | EU | SR | MS | P4 | OBSERVACIONES |
| | NF | TF (mm) | CL | NF | TF (mm) | CL | | | | | |
| 0 | | | | | | | | | | | |
| 1 | | | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | | | | | |
| 5 | | | | | | | | | | | |
| 6 | | | | | | | | | | | |
| 7 | | | | | | | | | | | |
| 8 | | | | | | | | | | | |
| 9 | | | | | | | | | | | |
| 10 | | | | | | | | | | | |
| 11 | | | | | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | | | | | |
| 13 | | | | | | | | | | | |
| 14 | | | | | | | | | | | |
| 15 | | | | | | | | | | | |
| 16 | | | | | | | | | | | |
| 17 | | | | | | | | | | | |
| 18 | | | | | | | | | | | |
| 19 | | | | | | | | | | | |
| 20 | | | | | | | | | | | |
| 21 | | | | | | | | | | | |
| 22 | | | | | | | | | | | |
| 23 | | | | | | | | | | | |
| 24 | | | | | | | | | | | |
| 25 | | | | | | | | | | | |
| 26 | | | | | | | | | | | |
| 27 | | | | | | | | | | | |
| 28 | | | | | | | | | | | |
| 29 | | | | | | | | | | | |
| 30 | | | | | | | | | | | |
| 31 | | | | | | | | | | | |
| OD ovario derecho | | | TF tamaño del folículo | | | SR recelaje | | | IA inseminación artificial | | |
| OI ovario izquierdo | | | CL tamaño del cuerpo lúteo (mm) | | | MS muestra de sangre | | | | | |
| NF número de folículos | | | EU edema uterino | | | P4 progesterona | | | | | |

C. Anexo: Recolección de datos durante el seguimiento ultrasonográfico de la gestación temprana

| ESTUDIO DE CARACTERIZACION DEL DESARROLLO EMBRIONARIO EN LA YEGUA CRIOLLA COLOMBIANA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--|
| YEGUA | | | | | | | | | | | EDAD | | | | | | | | | | | CRIADERO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Número de servicios | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Días de gestación | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PARAMETRO | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | |
| CL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Diámetro CL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ciaccesorio | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| FOD | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| FOI | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| DP | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| DVE (mm) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ubicación | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| VEM | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Posición | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Forma | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Fetocardia | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| EU | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| UUCD | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CU | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CNUD | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CNUI | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MS | x | | x | | | x | | | x | | | x | | | x | | | x | | | x | | | x | | | x | | | x | | | x | | | x | | | x | | | |
| P4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| | | |
|--|-------------------------------|-------------------------------|
| CL Cuerpo lúteo | VEM Visualización del embrión | CNUD cuerno uterino derecho |
| FOD Número de folículos ovario derecho | EU Grado de edema uterino | CNUI cuerno uterino izquierdo |
| FOI Número de folículos ovario izquierdo | BU base del útero (mm) | MS Muestra de sangre |
| DP Diagnóstico de preñez | CU cuerpo del útero (mm) | P4 Progesterona |

Bibliografía

Allen WR and Hadley JC. 1974. Blood progesterone concentrations in pregnant and non-pregnant mares. *Equine Veterinary Journal*. 6(2):87-93.

Allen WR. 2000. The physiology of early pregnancy in the mare. *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*. 46:338-354.

Allen WR. 2001. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reproduction*. 121:513–527.

Allen WR. 2005. Maternal recognition and maintenance of pregnancy in the mare. *Anim Reprod*. 2(4):209-223.

Amer HA, Shawki G and Ismail R. 2008. Profile of steroid hormones during oestrus and early pregnancy in Arabian mares. *Slov Vet Res*. 45(1):25-32.

Arruda RP, Visintin J, Fleury J, Garcia A, Madureira E, Celeghini E et al. 2001. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões equinos?. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 38:233-239.

Ball BA. 1988. Embryonic loss in mares. Incidence, possible causes and diagnostic considerations. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 4(2):263-290.

Beg MA and Ginther OJ. 2006. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. *Reproduction*. 132:365-377.

Bergfelt DR and Adams GP. 2007. The normal female reproductive system. Ovulation and corpus luteum development. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. Current Therapy in Equine Reproduction. Missouri: Saunders Elsevier. p. 1-13.

Boeta M, Porras A, Zarco LA, Aguirre-Hernández R. 2006. Ovarian activity of the mare during winter and spring at a latitude of 19°21' north. J Equine Vet Sci. 26(2):55-58.

Bragg ND, Pierson R, Buss D. 2001. Transrectal tonometric measurement of follicular softening and computer assisted ultrasound image analysis of follicular wall echotexture during estrus in mares. Reproduction. 47:242-245.

Bragg ND, Pierson RA, Card CE. 2002. Relationship between Estradiol 17 β and endometrial echotexture during natural and hormonally manipulated estrus in mares. Proceedings of the 43rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners. 48:41-47.

Carnevale EM and Ginther OJ. 1992. Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. Theriogenology. 37:1101-1115.

Crowell-Davis SL. 2007. Sexual behavior of mares. Hormones and Behavior. 52:12-17.

Cuervo-Arango J, Newcombe JR. 2008. Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. Theriogenology. 69:681-687.

Cuervo-Arango J, Aguilar J, Newcombe JR. 2009. Effect of type of semen, time of insemination relative to ovulation and embryo transfer on early equine embryonic vesicle growth as determined by ultrasound. Theriogenology. 71:1267-1275.

Daels PF and Hughes JP. 1993. The normal estrous cycle. In: McKinnon AO. Equine Reproduction. Philadelphia: Lea & Febiger.

Davies Morel MCG, Newcombe JR, Swindlehurst JC. 2005. The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare. Theriogenology. 63: 2482-2493.

Donadeu FX and Ginther OJ. 2002. Changes in concentrations of follicular fluid factors during follicle selection in mares. *Biol Reprod.* 66:1111–1118.

Escobar F, Hernández A. 1996. Vascularización, crecimiento alantocoriónico y ubicación del embrión durante la implantación en la vaca. *Rev Med Vet Zoot.* 44(1):7-11.

Evans TJ, Constantinescu GM, Ganjam VK. 1997. Clinical reproductive anatomy and physiology of the mare. In: Youngquist RS. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. Philadelphia: Saunders Elsevier.

FAO, Organización de la naciones unidas para la alimentación y la agricultura, 2003. [Internet]. Disponible en:<http://www.fao.org>.

Ferraz LES, Vicente WRR and Ramos PRR. 2001. Progesterone and estradiol 17- β concentration, and ultrasonic images of the embryonic vesicle during the early pregnancy in Thoroughbred mares. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 53(4).

Ferreira-Dias G, Pinto Bravo P, Mateus L, Redmerc DA, Medeiros JA. 2006. Microvascularization and angiogenic activity of equine corpora lutea throughout the estrous cycle. *Domest Anim Endocrinol.* 30:247–259.

Fortune JE, Rivera GM, Yang MY. 2004. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci.* 82–83:109–126.

Gaitán AA. 1987. Duración media del ciclo estral en yeguas en el pie de monte llanero. [Tesis de Pregrado]. [Villavicencio, Colombia] Universidad Tecnológica de los Llanos Orientales.

Gastal MO, Gastal EL, Kot K, Ginther OJ. 1996. Factors related to the time of fixation of the conceptus in mares. *Theriogenology.* 46:1171–1180.

Gastal EL, Gastal MO, Bergfelt DR, Ginther OJ. 1997. Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. *Biol Reprod.* 57:1320-1327.

Gastal MO, Gastal EL, Torres CAA, Ginther OJ. 1998. Transvaginal intrauterine injections in mares: effect of prostaglandin E2. *Theriogenology*. 49:258.

Gastal EL, Gastal MO, Wiltbank MC, Ginther OJ. 1999. Follicle deviation and intrafollicular and systemic estradiol concentrations in mares. *Biol Reprod*. 61:31–39.

Gastal EL, Gastal MO, Nogueira GP, Bergfelt DR, Ginther OJ. 2000. Temporal interrelationships among luteolysis, FSH and LH concentrations and follicle deviation in mares. *Theriogenology*. 53:925-940.

Gastal EL, Gastal, MO, Ginther, OJ. 2006. Serrated granulosa and other discrete ultrasound indicators of impending ovulation in mares. *J Equine Vet Sci*. 26(2):67-73.

Gastal EL. 2009. Recent advances and new concepts on follicle and endocrine dynamics during the equine periovulatory period. *Anim Reprod*. 6(1):144-158.

Gaviria MT and Hernández A. 1994. Morphometry of implantation in sheep. I. Trophoblast attachment, modification of the uterine lining, conceptus size and embryo location. *Theriogenology*. 41(5):1139-1149.

Ginther OJ. 1983a. Fixation and orientation of the early equine conceptus. Abstract. *Theriogenology*. 19(4):613-623.

Ginther OJ. 1983b. Mobility of the early equine conceptus. Abstract. *Theriogenology*. 19(4):603-611.

Ginther OJ, Bergfelt DR, Leith GS, Scraba ST. 1985. Embryonic loss in mares: incidence and ultrasonic morphology. *Theriogenology*. 24(1):73-86.

Ginther OJ. 1988. Ultrasonic imaging of equine ovarian follicles and corpora lutea. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 4(2):197-213.

Ginther OJ. 1992. *Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects*, 2nd ed., Madison (WI): Equiservices Publishing.

Ginther OJ. 1995. Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Horses. Book 2. Madison (WI): Equiservices Publishing.

Ginther OJ. 1998. Equine pregnancy: physical interactions between the uterus and conceptus. Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP). 44:73-104.

Ginther OJ. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. Anim Reprod Sci. 60-61:61-79.

Ginther OJ, Beg MA, Bergfelt DR, Donadeu FX, Kot K. 2001. Follicle selection in monovular species. Biol Reprod 65:638-647.

Ginther OJ, Beg MA, Gastal MO, Gastal EL. 2004. Follicle dynamics and selection in mares. Anim Reprod. 1(1):45-63.

Ginther OJ, Beg MA, Gastal EL. 2005. Systemic concentrations of hormones during the development of follicular waves in mares and women: a comparative study. Reproduction. 130:379-388.

Ginther OJ, Utt MD, Beg MA. 2007. Follicle deviation and diurnal variation in circulating hormone concentrations in mares. Anim Reprod Sci. 100:197–203.

Ginther O, Gastal E, Gastal M, Big M. 2007b. Effect of prostaglandin alfa on ovarian, adrenal, and pituitary hormones and on luteal blood flow in mares. Domest Anim Endocrinol. 32:315-328.

Ginther OJ, Gastal EL, Rodrigues BL, Gastal MO, Beg MA. 2008. Follicle diameters and hormone concentrations in the development of single versus double ovulations in mares. Theriogenology. 69(5):583-590.

Giraldo C. 2003. Principios básicos de ultrasonografía veterinaria. Rev Col Cienc Pec. 8(2):303-309.

Griffin PG and Ginther OJ. 1991. Dynamics of uterine diameter and endometrial morphology during the estrous cycle and early pregnancy in mares. *Anim Reprod Sci.* 25:133-142.

Griffin PG and Ginther OJ. 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J Anim Sci.* 70:953-972.

Griffin PG and Ginther OJ. 1993. Effects of the embryo on uterine morphology and function in mares. *Anim Reprod Sci.* 31:311–329.

Henao G, Trujillo LE. 2003. Dinámica folicular y función lútea durante la gestación temprana. Estudio de un caso en *Bos indicus*. *Rev Fac Nal Agr.* 56(1):1779-1788.

Ideam, Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios ambientales de Colombia, 2005. Atlas Climatológico de Colombia. Parte III, Aspectos Departamentales [Internet]. Colombia: Centro de documentación e Información científico técnica. [citado 2007 jun 01]. Disponible en: <https://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/Bvirtual/019711.htm>.

Ideam, Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios ambientales de Colombia, 2001. El medio ambiente en Colombia. Capítulo 7, Ecosistemas [Internet]. Colombia: Centro de documentación e Información científico técnica. [citado 2008 feb 01]. Disponible en: <https://documentacion.ideam.gov.co/openbiblio/Bvirtual/000001/cap7.pdf>.

Jablonka-Shariff A, Grazul-Bilska AT, Redmer DA, Reynolds LP. 1993. Growth and cellular proliferation of ovine corpora lutea throughout the estrous cycle. *Endocrinol.* 133:1871–1879.

Kanitz W, Schneider F, Hoppen, H-O, Unger C, Nürnberg G, Becker F. 2007. Pregnancy rates, LH and progesterone concentrations in mares treated with a GnRH agonist. *Anim Reprod Sci.* 97:55–62.

Ley WB, Lessard P, Bowen JM. 1988. Variability in equine embryonic vesicle diameter detected by ultrasonography. *Equine Veterinary Sci.* 8(1):72-73.

López JJ y Rodríguez CA. 2005. Dinámica ovárica y niveles de progesterona durante el ciclo estral de yeguas criollas colombianas en la Sabana de Bogotá-Colombia. [Tesis de Pregrado]. [Bogotá, Colombia] Universidad Nacional de Colombia.

Madill S. 2002. Reproductive considerations: mare and stallion. *Vet Clin Equine*. 18: 591–619.

Marković D, Pavlović M, Pavlović V. 2003. Seasonality, folliculogenesis and luteogenesis in mare ovaries. *Medicine and Biology*. 10(3): 120 – 126.

McDowell KJ, Sharp DC, Grubaugh WR, Thatcher WW, Wilcox CJ. 1998. Restricted conceptus mobility results in failure of pregnancy maintenance. *Biol Reprod*. 39:340–348.

McDonnell SM. 2000. Reproductive behavior of stallions and mares: comparison of free-running and domestic in-hand breeding. *Anim Reprod Sci*. 60–61:211–219.

McKinnon AO and Pycock JF. 2007. Maintenance of Pregnancy. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. *Current Therapy in Equine Reproduction*. Missouri: Saunders Elsevier. p. 389-409.

Meyers PJ, Bonnett BN, McKee SL. 1991. Quantifying the occurrence of early embryonic mortality on three equine breeding farms. *Can Vet J*. 32:665-672.

Miyazaki T, Tanaka M, Miyakoshi K, Minegishi K, Kasai K, Yoshimura Y. 1998. Power and colour doppler ultrasonography for the evaluation of vasculature of the human corpus luteum. *Reproduction*. 13(10):2836 – 2841.

Morel MCGD, Newcombe JR, Swindlehursta JC. 2005. The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare. *Theriogenology*. 63:2482–2493.

Nagy P, Guillaume D, Daels P. 2000. Seasonality in mares. *Anim Reprod Sci* 60–61:245–262.

Nett TM, Pickett BW, Seidel GE, Voss JL. 1976. Levels of Luteinizing Hormone and Progesterone During the Estrous Cycle and Early Pregnancy in Mares. *Biol Reprod.* 14:412-415.

Newcombe JR. 1996. Ultrasonography of ovulation and development of the corpus luteum in the mare. *Equine Vet. Ed* 8(1):47-58.

Pal Y, Gupta AK, Dwivedi SK. 2001. Ultrasonography in equine reproduction. *Vet Pract.* 2(2):125-129.

Papa FO, Lopes MD, Alvarenga MA, Meira C, Luvizotto MCR, Langoni H, Ribeiro EF, Azedo AE, Bomfim AC. 1998. Early embryonic death in mares: clinical and hormonal aspects. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 35(4):170-173.

Presidencia de la República, 2003. [Internet]. Disponible en: <http://www.Presidencia de la República.gov.co>.

Pryor P and Tibary A. 2005. Management of Estrus in the Performance Mare. *Clin Tech Equine Pract.* 4:197-209.

Pycock JF and Dieleman S. 1995. Correlation of plasma concentrations of progesterone and estradiol with ultrasound characteristics of the Uterus and duration of estrous behavior in the cycling mare. *Reprod Dom Anim.* 30:224.

Pycock JF. 2007. The Pregnant mare: Diagnosis and Management. *Pregnancy Diagnosis in the mare.* In: *Current Therapy in Equine Reproduction.* Missouri: Saunders Elsevier. p. 335-342.

Ramírez G, Gutiérrez C, Ramos M. 2010. Dinámica folicular en yeguas Paso Fino colombiano medido por ultrasonografía en la Sabana de Bogotá. *Rev Med Vet.* 19:21-35.

Samper JC. 1997. Ultrasonographic appearance and the pattern of uterine edema to timed ovulation in mares. *Proceedings of the 43rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners.* 43:189-191.

Samper JC and Pycock JF. 2007. The normal female reproductive system. The normal uterus in estrus. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. *Current Therapy in Equine Reproduction*. Missouri: Saunders Elsevier. p. 32-35.

Sevinga M, Schukken YH, Hesselink JW, Jonker FH. 1999. Relationship between ultrasonic characteristics of the corpus luteum, plasma progesterone concentration and early pregnancy diagnosis in Friesian mares. *Theriogenology*. 52:585-592.

Sharp DC. 2000. The early fetal life of the equine conceptus. *Anim Reprod Sci*. 60–61:679–689.

Silva LA, Gastal EL, Beg MA, Ginther OJ. 2005. Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. *Biol Reprod*. 72:755–761.

Slusher. 2003. Oklahoma State University. [Internet]. Disponible en: <http://www.OklahomaStateUniversity.com>.

Spencer TE, Burghardt RC, Johnson GA, Bazer FW. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anim Reprod Sci*. 82–83:537–550.

Stout TAE and Allen WR. 2001. Role of prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus. *Reproduction*. 121:771–775.

Townson D, Pierson R, Ginther O. 1989. Characterization of plasma progesterone concentrations for two distinct luteal morphologies in mares. *Theriogenology*. 32(2):197 – 204.

Vanderwall DK, Squires EL, Brinsko SP, McCue PM. 2000. Diagnosis and management of abnormal embryonic development characterized by formation of an embryonic vesicle without an embryo in mares. *J Am Vet Med Assoc*. 217(1):58-63.

Vanderwall DK and Newcombe JR. 2007. The pregnant mare: diagnosis and management. Early embryonic loss. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO, editors. *Current Therapy in Equine Reproduction*. Missouri: Saunders Elsevier. p.374.

Vivo R, Santisteban R, Tovar P y Castejon F. 1986. Valores de progesterona en plasma de yeguas españolas y árabes durante el ciclo reproductor. Archivos de Zootecnia. 35(131):59-67.

Watson ED. 2000. Post-breeding endometritis in the mare. Animal Reproduction Science. 60 – 61: 221–232.