



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

**EFICACIA DE UN TRATAMIENTO DE SUPEROVULACIÓN EN
YEGUA FINA SANGRE CHILENA**

Felipe Arturo Acevedo Galaz

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias
Biológicas Animales

PROFESOR GUÍA: VÍCTOR HUGO PARRAGUEZ GAMBOA
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

SANTIAGO, CHILE
2013



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

**EFICACIA DE UN TRATAMIENTO DE SUPEROVULACIÓN EN
YEGUA FINA SANGRE CHILENA**

Felipe Arturo Acevedo Galaz

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias
Biológicas Animales

Nota Final 7,0

Profesor Guía	Víctor Parraguez
Profesor Corrector	Oscar Peralta
Profesor Corrector	Mario Acuña

PROFESOR GUÍA: VÍCTOR HUGO PARRAGUEZ GAMBOA
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile

SANTIAGO, CHILE
2013

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

A mis padres, Juan y Patricia.

ÍNDICE DE CAPITULOS

RESUMEN EJECUTIVO.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
Ciclo estral de la yegua.....	5
Fase folicular o estro.....	5
Fase luteal o diestro.....	6
Control endocrino del ciclo estral.....	6
Superestimulación del ovario.....	7
Dificultad de las yeguas para superovular.....	8
OBJETIVOS.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
RESULTADOS.....	12
DISCUSIÓN.....	18
CONCLUSIÓN.....	20
BIBLIOGRAFÍA.....	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1	13
Figura N°2	14
Figura N°3	14
Figura N°4	15
Figura N°5	15
Figura N°6	16
Figura N°7	17
Figura N°8	17
Figura N°9	18

RESUMEN EJECUTIVO

La transferencia de embriones (TE) es una técnica crecientemente utilizada en el campo de la reproducción equina, sin embargo, no cuenta con un porcentaje de éxito muy elevado. Uno de los inconvenientes que puede influir en lo anterior, es la baja respuesta de las yeguas a los tratamientos de superovulación.

En este estudio, se evaluó la respuesta superovulatoria en yeguas fina sangre chilenas, a las que se les aplicó dos diferentes dosis de pFSH. Se utilizaron siete yeguas en edad reproductiva, mantenidas bajo las mismas condiciones. Se les realizó exámenes ecográficos para evaluar dos ciclos previos a la aplicación del tratamiento, los que se utilizaron como ciclos control. Siete días después de la ovulación se indujo la luteolisis mediante la administración de 5 mg (IM) de Prostaglandina $F_{2\alpha}$. Posteriormente, las yeguas se separaron en dos grupos, a las que se les administraron dos dosis diarias de 8 mg (T1) o de 16 mg (T2) de pFSH (a.m. – p.m.) por siete días. Al ciclo siguiente las yeguas fueron cambiadas de tratamiento. Se registró el número de cuerpos lúteos generados, diámetro folicular a la ovulación, diámetro ovárico, crecimiento folicular y duración tanto del ciclo como del celo. Los resultados se compararon mediante la prueba de Kruskal-Wallis, considerándose un efecto significativo cuando $P < 0,05$.

Los resultados obtenidos demostraron que el T1 no mostró diferencias significativas con los ciclos control (un folículo ovulado por yegua). El T2, en cambio, presentó un incremento significativo de la tasa ovulatoria (1,57 ovulaciones por yegua). A su vez no hubo variaciones significativas en el diámetro folicular a la ovulación ni en el diámetro ovárico; tampoco hubo variaciones significativas en la duración del ciclo ni en la velocidad de crecimiento folicular, por lo que se presume que no se altera la calidad del folículo o del ovocito.

Se concluye que la dosis de pFSH de 16 mg, administrada según el protocolo descrito en el presente estudio, es una buena herramienta para incrementar la tasa ovulatoria en la implementación de la TE en equinos.

Palabras clave: Superovulación equina, pFSH, manejo ciclo reproductivo.

ABSTRACT

Embryo transfer (ET) is a widely used technique in the equine reproduction, however, it has low success rate. One kind of causes influencing the above is the low response of mares to superovulation treatments.

In this study, the superovulatory response in chilean thoroughbred mares administered with two different doses of pFSH, was evaluated. Seven adult cycling mares were used. In the study, ultrasound examinations were performed to evaluate two cycles prior to the application of the treatments. These cycles were used as controls. Seven days after observation of ovulation, the luteolysis was induced by administration of 5 mg (IM) of Prostaglandin F_{2α}. Afterwards, mares were separated in two groups, which were administered with two daily (am-pm) doses of 8 mg (T1) or 16 mg (T2) of pFSH. These treatments were alternated at the following cycle. The number of corpora lutea, follicular diameter, ovarian diameter, follicular growth and the length of the cycle and estrous were recorded. The results were compared using the Kruskal-Wallis test, considering a significant effect when $p < 0.05$.

The obtained results showed that T1 was not different compared to the controls (one ovulated follicle per mare). Meanwhile, T2 showed a significant increase of the ovulatory rate (1.57 ovulated follicles per mare). Furthermore, there were no significant differences in follicular diameter at ovulation or in ovarian diameter. In addition, no changes were observed in the cycle length or in follicular growth, suggesting that the quality of follicle or oocyte is not affected.

It is concluded that 16 mg pFSH dose, administered following the described protocol, is a good tool to increase the ovulatory rate in the implementation of an ET program.

Key words: Equine superovulation, pFSH, handling of the reproductive cycle.

INTRODUCCIÓN

La fertilidad de la yegua es una de las variables más importantes a considerar en el éxito de los criaderos equinos, ya que de ella depende la cantidad de ejemplares que se entrega al mercado. Sin embargo, el equino se considera como una de las especies con menor eficiencia reproductiva entre los animales domésticos (Hafez, 2002).

Existen varios factores que contribuyen a esta característica recién mencionada:

- La estacionalidad de los ciclos ovulatorios (Johnson y Becker, 1993).
- El comportamiento errático de los ciclos estrales, especialmente durante el periodo de transición (Johnson y Becker, 1993).
- La larga duración de la fase folicular dentro del ciclo y la variabilidad de la duración del comportamiento estral entre ciclos estrales (Johnson y Becker, 1993).

Por otra parte, a lo anterior debemos agregar que se selecciona genéticamente a los ejemplares, principalmente por sus características deportivas y no por sus aptitudes reproductivas (Hafez, 2002).

Es por lo antes mencionado que, en ocasiones, a las yeguas con un desempeño deportivo destacable no es conveniente apartarlas del ambiente deportivo y es ahí donde entran a jugar un rol importantísimo las biotecnologías reproductivas, en especial la transferencia de embriones (TE).

La TE en la yegua, es una de las técnicas de reproducción asistida más ampliamente utilizada (Vanderwall, 2000). Las aplicaciones incluyen:

- Obtención de potrillos de yeguas en entrenamiento.
- Obtención de un mayor número de potrillos por yegua por año, maximizando la contribución genética de esa yegua en su vida reproductiva.
- Obtención de potrillos en yeguas subfértiles.
- Obtención de potrillos de yeguas con problemas de salud de índole no reproductiva.

- Por último, la utilización de la técnica como herramienta de investigación (Vanderwall, 2000).

A grandes rasgos, la técnica de TE consiste en obtener uno o más embriones mediante la inseminación artificial (IA) de la yegua donante. El embrión es posteriormente recolectado mediante un lavado uterino transcervical, para luego ser depositado en una yegua receptora, la cual llevará a cabo la gestación a término (Vanderwall, 2000).

Las terapias hormonales para controlar el ciclo estral de la yegua, son muy utilizadas en el ámbito de biotecnologías reproductivas en el campo de la reproducción equina. Gracias a éstas es posible realizar protocolos de sincronización de celos y así llevar a cabo procedimientos como la TE (Logan *et al.*, 2006).

Para lo anterior también es necesario contar con el mayor número de ovulaciones posibles, ya que de esta forma hay una mayor probabilidad de recuperar embriones luego de la cópula o de la inseminación artificial (IA), con lo que se incrementa el porcentaje de éxito de este procedimiento.

Existen varios protocolos que intentan sobre-estimular el ovario de la yegua para así conseguir una superovulación (Schmeisser, 1992). Entre los protocolos más utilizados encontramos la administración de hormona folículo estimulante equina (eFSH), previo manejo hormonal con progesterona y estradiol (Logan *et al.*, 2006). También puede utilizarse Prostaglandina F_{2α} al día 7 post ovulación, para posteriormente superestimular el ovario mediante la aplicación dos veces al día de FSH de origen porcino (pFSH) durante 7 días (Joanne *et al.*, 1993). Sin embargo, no existen actualmente estudios en Chile que evalúen la real eficacia del uso de este protocolo.

Es por todo lo anterior que se pretende evaluar la eficacia del último protocolo de superestimulación folicular mencionado, mediante la determinación del número de cuerpos lúteos posterior a la aplicación del protocolo de superovulación.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Ciclo estral de la yegua

El ciclo estral se ha definido como “el número de días que media entre una ovulación y otra, acompañado por un periodo de estro y de un nivel plasmático de progesterona menor a 1 ng/ml”. La concentración de progesterona está incluida en la definición, ya que puede ocurrir que la yegua ovule en diestro con niveles altos de progesterona. Sin embargo, esa ovulación no representa el final del ciclo (Le Blanc, 1998).

El ciclo estral se ha dividido por conveniencia en una fase folicular o estro, y una fase luteal o diestro. Cada fase está caracterizada por un comportamiento específico, por cambios endocrinos y genitales que serán analizados a continuación (Adams y Bosu, 1988).

Fase folicular o Estro

Esta fase se ha definido como el periodo de receptividad sexual, que se caracteriza en las yeguas, por signos como: eversión del clítoris, elevación de la cola, emisión de pequeñas cantidades de orina y quietud en espera que se realice la monta (Hafez, 2002; Hughes *et al.*, 1975).

El comportamiento de estro de la yegua frente al macho celador, está relacionado con las altas concentraciones de estrógenos circulantes y seguida de la baja de progesterona (Le Blanc, 1998).

Bajo el predominio de estrógeno la vulva se edematiza, los pliegues de los labios se encuentran laxos y se abren con facilidad durante el examen. La vulva se presenta de color anaranjado, húmeda, brillante y cubierta con una capa de mucus transparente. La mucosa vaginal se encuentra en gran medida vascularizada y en la vagina se puede acumular un mucus acuoso y delgado (Hafez, 2002). El útero se palpa flácido, sin tonicidad ni tubularidad (Adams y Bosu, 1988).

La intensidad del comportamiento varía tanto a lo largo del periodo estral, como entre diferentes yeguas en etapas comparables de dicho periodo (Hafez, 2002).

La duración del celo varía de una yegua a otra y también entre ciclos estrales en una misma yegua. Además, al inicio de la temporada reproductiva los estros o celos tienden a ser más largos y, a medida que avanza la estación éstos se acortan, de tal manera que se han establecido duraciones de estro de cuatro a ocho días (Adams y Bosu, 1988).

Fase luteal o Diestro

Se le define como el intervalo entre el último día del estro de un ciclo y el primer día del siguiente (Von Frey, 1984).

Esta fase se caracteriza, desde el punto de vista conductual, por una activa resistencia al macho. Desde el punto de vista de la función del tracto reproductivo, esta fase se caracteriza por la formación del cuerpo lúteo y la respectiva secreción de progesterona (Le Blanc 1998). Bajo el predominio progestacional, el útero y el cérvix pierden la apariencia edematosa del estro. A la palpación rectal, se nota un aumento del tono y de la tubularidad. El cuerpo lúteo se logra ver por imagen ecográfica hasta el día 17 post ovulación. La vida funcional del cuerpo lúteo termina entre el día 14 y 17 post ovulación (Adams y Bosu, 1988).

Control endocrino del ciclo estral

El fotoperiodo ejerce su acción sobre el sistema nervioso central (particularmente sobre la glándula pineal), para modificar la secreción de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) desde el hipotálamo. Luego de ser liberada, la GnRH estimula en la hipófisis anterior la liberación de hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH) (Le Blanc, 1998). La FSH estimula el crecimiento folicular durante el diestro, mientras que los folículos en crecimiento aumentan la producción de estrógeno, los cuales ejercen una retroalimentación positiva sobre LH y estimula una temporal baja de FSH (Le Blanc, 1998). Los estrógenos comienzan a aumentar seis a ocho días antes de la ovulación y alcanzan su valor máximo 24 a 48 horas previo al *peak* de LH (Von Frey, 1984). La ovulación se produce previo al *peak* de LH (Stabenfeldt *et al.*, 1975). La FSH y los estrógenos inducen a los receptores de LH en la teca interna y en las células de la granulosa del folículo preovulatorio (Adams y Bosu, 1988).

Las células de la granulosa del folículo preovulatorio producen inhibina que actúa sobre el hipotálamo y la hipófisis, produciendo una retroalimentación negativa sobre FSH.

Posteriormente, tarde en el diestro, los altos niveles de estrógenos circulantes estimulan el aumento de oxitocina e inducen la formación de receptores de oxitocina en el útero. Los niveles de oxitocina aumentan y estimulan la producción uterina de prostaglandinas el día 14 post ovulación (Le Blanc, 1998). Por su parte las prostaglandinas inducen la regresión del cuerpo lúteo y la consecuente baja de progesterona (Hafez, 2002).

Superestimulación del Ovario

La superestimulación ovárica puede potencialmente incrementar la recuperación de embriones después de la monta o de la IA y, de esta forma, disminuir los costos de la posterior transferencia de embriones o criopreservación (Logan *et al.*, 2006). Se han realizado numerosos intentos por inducir ovulaciones múltiples en las yeguas, incluyendo la administración de eCG, PMSG, GnRH, eFSH y extracto de hipófisis equina (EHE), además de la inmunización contra inhibina. No obstante, hasta la fecha no se ha obtenido un producto o una técnica suficientemente buena o lo suficientemente estudiadas (Sinervia, 2007).

En los años 80, se realizaron intentos de superovulación en yegua utilizando gonadotropina sérica de la yegua preñada (PMSG) (Allen, 1982). La PMSG, hormona de alto peso molecular, tiene una actividad biológica similar a la FSH y a la LH. El uso de esta hormona en bovinos, ovejas, cabras y cerdos produce superovulación. Sin embargo, aun cuando esta hormona en particular se encuentra en altas concentraciones en la sangre de las yeguas gestantes – entre los días 40 y 120 de preñez – es completamente inefectiva para estimular el desarrollo folicular al aplicarla de manera exógena en la misma especie. Al parecer la PMSG exógena actúa como proteína extraña, produciéndose anticuerpos que reducen la estimulación ovárica (Schmeisser, 1992).

Actualmente el protocolo estándar para la administración de eFSH consiste en la administración de 12,5 mg de eFSH dos veces al día, comenzando cinco a siete días después de la ovulación y de la administración de prostaglandinas (PGF_{2α}) para producir la

luteolisis. También es posible administrar un agente inductor de la ovulación (AIO) una vez que los folículos alcanzan tamaños iguales o superiores a 35 mm de diámetro (Logan *et al.*, 2006).

Desafortunadamente, la respuesta a la terapia con eFSH no es siempre consistente entre yeguas. Además, se suspendió su producción a nivel mundial debido a la no aprobación del medicamento por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA por sus siglas en inglés)¹. Sin embargo, se han realizado estudios utilizando FSH de origen porcino (Folltropin® Bioniche Animal Health, Belleville, Ontario, Canada), en donde la tasa de ovulaciones múltiples fue significativamente superior utilizando dosis de 8, 16 y 32 mg del producto, siendo éstas de 1,83, 1,54 y 1,50 respectivamente. Todas las ovulaciones múltiples fueron ovulaciones dobles (Joanne *et al.*, 1993). A la vez, un estudio realizado en yeguas criollas colombianas, donde se utilizó Folltropin® en dosis de 6,25 mg, mostró resultados parcialmente positivos, ya que sólo una de cada cinco yeguas desarrolló dos o más folículos de tamaño superior o igual a 35 mm (Abril *et al.*, 2007).

Dificultad de las yeguas para superovular

La o las razones del por qué no se ha podido encontrar un método efectivo para recolectar un número mayor de lo normal de embriones viables ha sido muy discutida y permanece hipotética (Schmeisser, 1992).

Una de las causas podría ser la morfología especial del ovario de la yegua. En los otros animales domésticos, la zona parenquimatosa se encuentra en la superficie del ovario, en cambio en la yegua se encuentra en el centro (Mossman y Duke, 1973). Además, en los otros animales existe una superficie mayor para la ovulación, en cambio, en el equino esta superficie se encuentra solamente en la fosa ovulatoria (Allen, 1982). Es por lo anterior que algunos autores creen que una acumulación de folículos en la fosa ovulatoria podría interferir en la ovulación de cada uno de ellos (Ginther, 1979).

¹ Lossino, Luis. MV, PhD. Profesor Asociado Efectivo, Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto. 2012. [Comunicación personal vía correo electrónico]

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia de un protocolo de superovulación en yeguas fina sangre chilena.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar si el efecto superovulatorio de la aplicación de hormona folículo estimulante porcina (pFSH) posterior a la administración de prostaglandina $F_{2\alpha}$, genera ovulaciones múltiples en un ciclo estral.
2. Evaluar los efectos del protocolo de superovulación versus los ciclos reproductivos control:
 - i. Acortamiento del ciclo.
 - ii. Tamaño de estructuras ováricas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en un criadero de equinos fina sangre chileno, ubicado en la Región Metropolitana, Comuna de Melipilla, durante la temporada reproductiva 2012, entre los meses de Agosto y Diciembre.

En el estudio se utilizaron siete yeguas fina sangre chilena entre los cuatro y doce años de edad, con un peso que fluctuó entre los 300 y 400 Kg.

El control de las estructuras útero-ováricas durante los ciclos reproductivos se realizó mediante ecografía transrectal.

Para los exámenes ultrasonográficos se utilizó:

- Un ecógrafo veterinario portátil Mindray® DP 6600 Vet.
- Un transductor endorectal multifrecuencia de 5,0 - 7,5 y 10 Mhz.
- Maneas de sujeción
- Brete de palpación.

Se hicieron exámenes ecográficos reproductivos día por medio, mediante la introducción del transductor endorectal para visualizar tanto los ovarios como el cuerpo uterino en los meses de Agosto y Septiembre. De esta forma se evaluaron los celos de transición y el comportamiento del crecimiento folicular ovárico hasta la ovulación. El seguimiento conductual y ecográfico de estos ciclos se consideró como ciclo control para efectos de la evaluación final del ensayo.

Posteriormente en los meses de Octubre a Diciembre se utilizó un protocolo de superovulación consistente en la administración de Prostaglandina $F_{2\alpha}$ (Lutalyse® Pfizer, Lima, Perú) 5 mg IM, pasados siete días de la ovulación, para luego superestimular el ovario con FSH de origen porcino (Folltropin®) en dosis de 8 mg (am-pm) IM durante siete días para el grupo 1. En el grupo 2 se comenzó con una dosis de 16 mg (am-pm) IM durante siete días. Posteriormente, en el ciclo consecutivo se repitió el protocolo, pero aplicando 16 mg (am-pm) IM de Folltropin® al grupo 1 y 8 mg (am-pm) IM de Folltropin® al grupo 2. Ambos grupos fueron seleccionados al azar.

Se realizaron exámenes ecográficos reproductivos seriados, una vez al día para evaluar el comportamiento folicular y, de esta manera, realizar la evaluación del crecimiento folicular, las ovulaciones y posterior recuento de cuerpos lúteos.

Los resultados del número de folículos que llegó a un tamaño ovulatorio, que ovularon, así como el número de cuerpos lúteos desarrollados en los ciclos control y tratados, se compararon mediante la prueba estadística de Kruskal-Wallis. Se consideró un efecto significativo cuando $P < 0,05$.

RESULTADOS

Los siguientes datos se obtuvieron de siete yeguas, a las que se les registraron dos ciclos control y posteriormente se les aplicó dos tratamientos de superestimulación ovárica: Tratamiento 1 (T1) consistente en la administración de 8 mg de pFSH y tratamiento 2 (T2) donde se administraron 16 mg de pFSH.

De lo anterior se registró el número de ovulaciones por tratamiento, la duración tanto del ciclo como del estro, los diámetros foliculares a la ovulación, la velocidad de crecimiento folicular y finalmente los diámetros de los ovarios tanto a la ovulación, como 10 días previos a esta.

En los ciclos control y en el T1, no se registraron ovulaciones múltiples, sin embargo, al aplicar el T2, se originaron ovulaciones dobles en cuatro de las siete yeguas (57%), con un valor p de X^2 igual a 0,047, siendo esta una diferencia significativa (Figura 1). La tasa de ovulación en T2 fue de 1,57, mientras que tanto en los controles como en T1 fue de 1,0. Ninguna de las ovulaciones dobles se dio en un mismo ovario.

Figura N° 1

Porcentaje de ovulaciones dobles en yeguas chilenas tratadas con 16 mg de pFSH (T2)

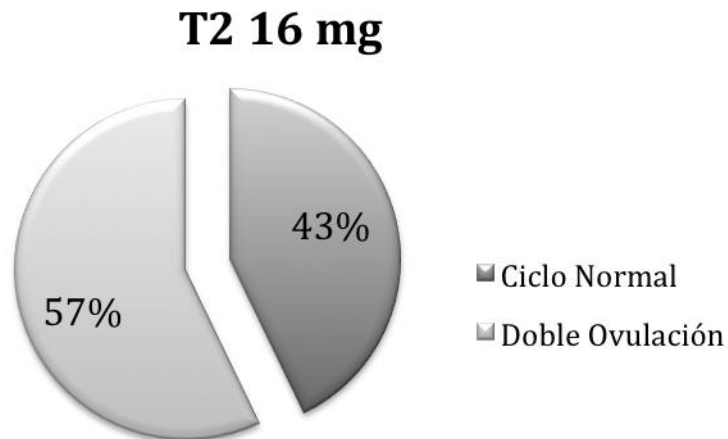
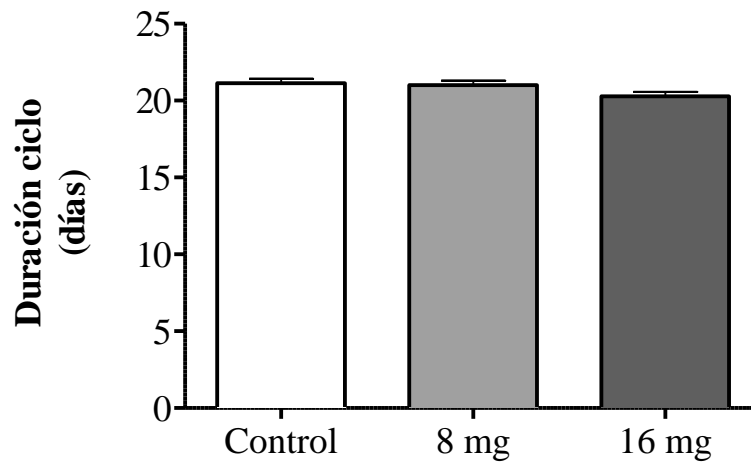


Figura N° 2

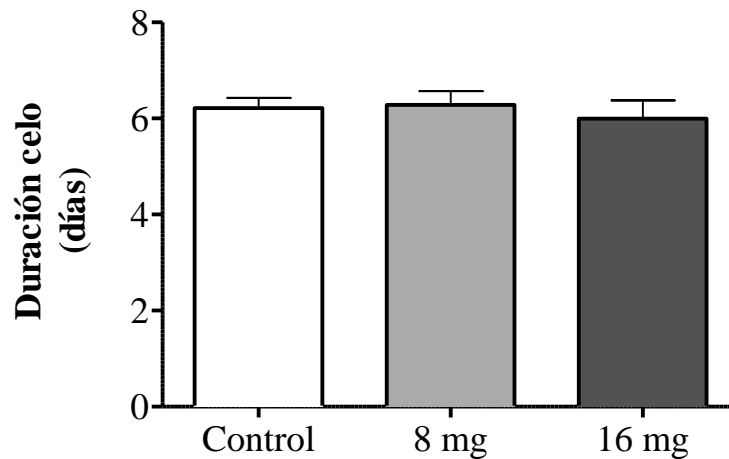
Duración del ciclo en yeguas chilenas tratadas con pFSH



La duración promedio del ciclo control fue de $21,0 \pm 1,0$ días; en T1 fue de $21,0 \pm 0,8$ días, mientras que en T2 fue de $20,0 \pm 0,7$ días (figura 2). La diferencia no fue significativa ($p=0,176$).

Figura N° 3

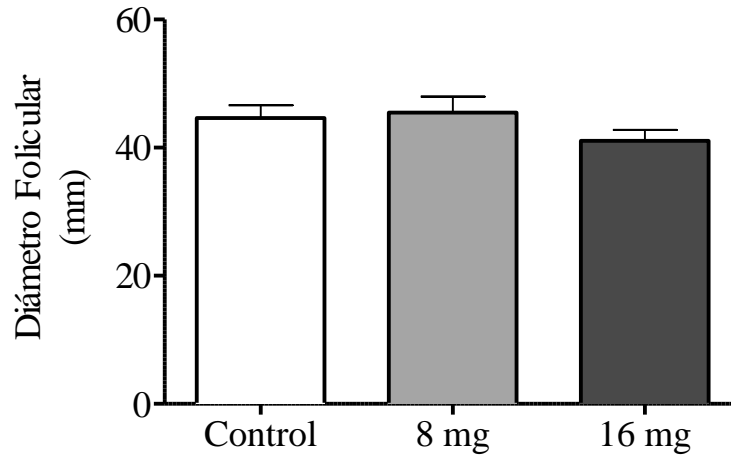
Duración del celo o estro en yeguas chilenas tratadas con pFSH



La duración del celo fue poco variable, siendo tanto en el control como en ambos tratamientos de seis días en promedio (figura 3).

Figura N° 4

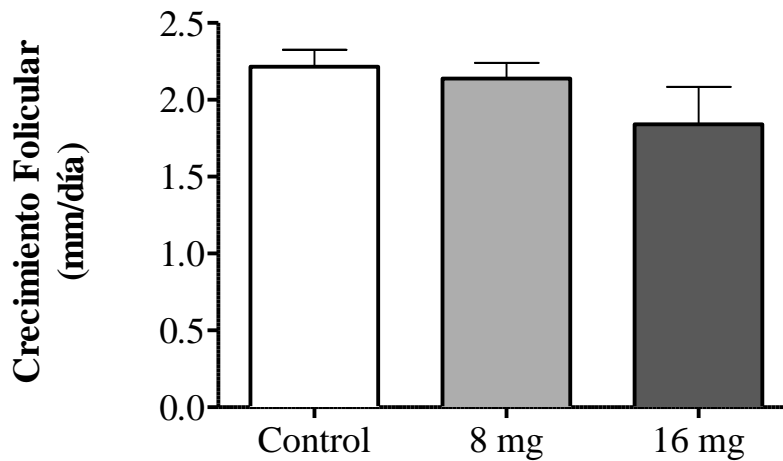
Diámetro folicular al momento de la ovulación en yeguas tratadas con pFSH



La figura 4 muestra el promedio del diámetro folicular. Si bien se aprecia una leve variación entre los promedios de los diámetros foliculares de los ciclos control, T1 y T2, siendo estos de 44,6±5,5; 45,4±6,6 y 41,1±5,0 mm respectivamente, esta variación no es significativa ($p=0,226$).

Figura N° 5

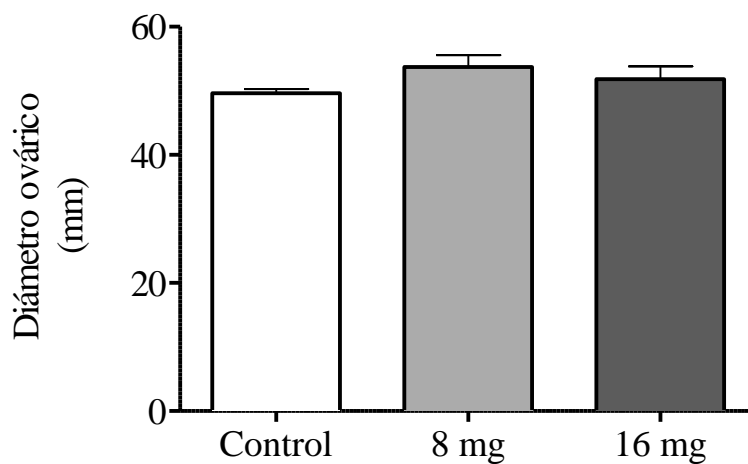
Velocidad de crecimiento folicular en yeguas chilenas tratadas con pFSH



La velocidad promedio de crecimiento folicular de los ciclos control (figura 5) fue de $2,2\pm 0,4$ mm/día. Esta disminuye tanto para T1 como para T2, siendo de $2,1\pm 0,2$ y $1,9\pm 0,7$ mm/día, respectivamente. Nuevamente la diferencia no es significativa ($p=0,6768$).

Figura N° 6

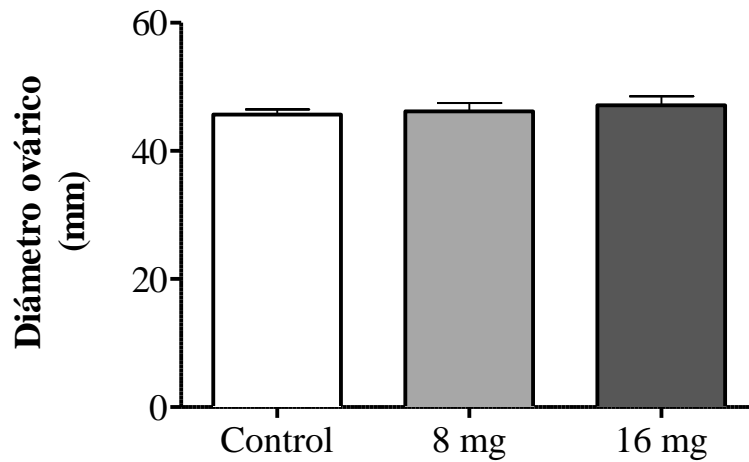
Diámetro ovárico al momento de la ovulación en yeguas chilenas tratadas con pFSH



El promedio del diámetro ovárico (figura 6) en los ciclos control fue de $49,6\pm 2,4$ mm, el cual aumento en T1 siendo de $53,7\pm 4,9$ mm, mientras que el aumento fue menor con el T2 siendo de $51,8\pm 6,5$ mm. Sin embargo, el aumento no fue significativo ($p= 0,0612$).

Figura N° 7

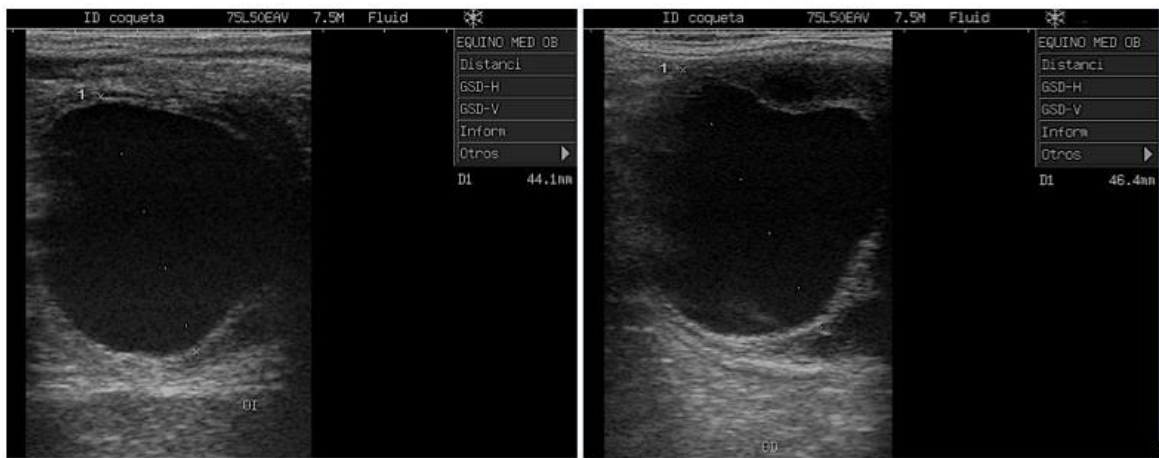
Diámetro ovárico 10 días antes de que ocurra la ovulación en yeguas chilenas tratadas con pFSH



Los promedios de diámetros ováricos 10 días antes de la ovulación (figura 7) fueron semejantes entre los ciclos control, T1 y T2, siendo estos de 45,6±2,9; 46,1±3,4 y 47,1±4,7 mm respectivamente. Nuevamente las diferencias no son significativas ($p=0,6264$).

Figura N° 8

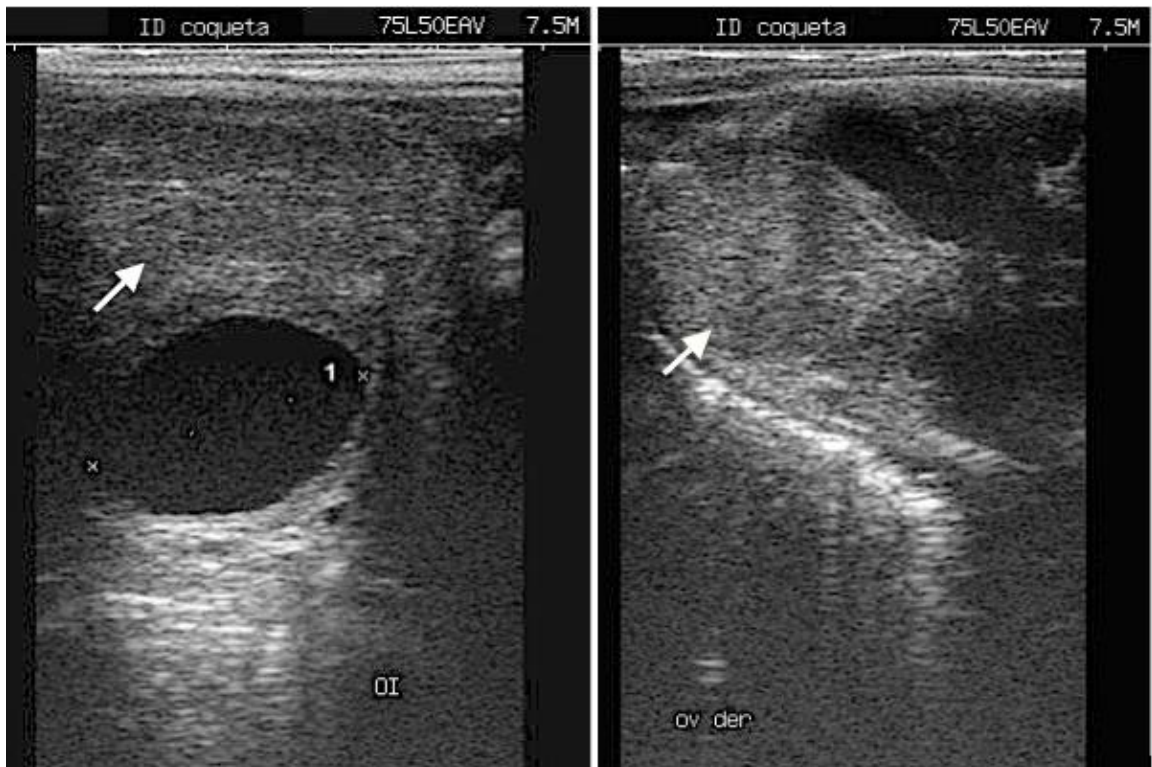
Ejemplo de folículos preovulatorios en ambos ovarios



En la imagen de la figura 8 se aprecian folículos preovulatorios en ambos ovarios, posterior a la aplicación del T2. Ambos folículos superan los 44 mm de diámetro.

Figura N° 9

Ejemplo de cuerpos lúteos en ambos ovarios



En la imagen de la figura 9 se aprecia un cuerpo lúteo sobre un folículo en el ovario izquierdo, mientras que en el ovario derecho se observa el cuerpo lúteo a la izquierda de la imagen.

DISCUSIÓN

La TE es ampliamente utilizada en yeguas, pero tiene bajos porcentajes de eficiencia total (entre un 25 y 65% de gestaciones a término) en comparación con otras especies (Torres, 2012), esto debido – entre otras cosas – a la baja respuesta de la especie a la superovulación.

En el presente trabajo, el porcentaje de ovulaciones dobles (57%), nos permite hablar de una efectividad considerable del protocolo. Los resultados concuerdan parcialmente con los obtenidos por Joanne *et al* (1993), ya que mientras ellos obtuvieron una tasa de ovulación de 1,83 y 1,54 utilizando dosis de 8 y 16 mg de pFSH respectivamente, en este ensayo se obtuvo una tasa de 1 y 1,57 bajo los mismos tratamientos. A la vez existen diferencias con lo realizado por Abril *et al* (2007), quienes utilizando dosis de 6,25 mg de pFSH obtuvieron una respuesta superovulatoria nula, llegando a una tasa ovulatoria de 1,2. Cabe destacar que estos investigadores, además de utilizar una dosis más baja de pFSH, también utilizaron yeguas más jóvenes – con una media de 5,3 años – y con un peso menor (en promedio 275 Kg).

Por otra parte, al cambiar de agente inductor de superovulación, aplicando eFSH, se incrementa la tasa de ovulación, llegando a 2,8. Sin embargo, a la vez se aumentan los porcentajes de folículos que llegan a tamaños ovulatorios (≥ 35 mm), pero que no ovulan (Raz y Card, 2009), además de obtener una respuesta no siempre consistente entre los individuos (Logan *et al.*, 2006).

A su vez, Meyers-Brown *et al* (2011), concluyen que utilizando FSH recombinante equina (reFSH), seguido de la aplicación de LH recombinante equina (reLH) la tasa de ovulación se dispara siendo de 4,62 y, a la vez, se disminuye el número de folículos anovulatorios ≥ 35 mm.

La duración promedio tanto del ciclo como del celo – 21 y seis días respectivamente – en los controles como en el T1, concuerda con la literatura, encontrándose dentro de los valores esperados para la especie (Adams y Bosu, 1988). A la vez la variación en la duración del ciclo ($1\pm 0,86$) no es significativa, por lo que se puede afirmar que la aplicación de este protocolo no afecta en su duración al ciclo estral de la yegua.

Los diámetros foliculares a la ovulación se encuentran dentro del rango normal para la especie, el que según Pérez (2010) fluctúa entre 4 a 6 cm, y el que a la vez varía entre las distintas razas, siendo de 41,3 en el pura raza árabe y 43,8 en el pura raza español (Vivo y Vinuesa, 1993).

El crecimiento folicular fue de 2,2, 2,1 y 1,9 mm/día en los controles, T1 y T2 respectivamente. Estos se encuentran por debajo de lo observado por Abril *et al* (2007), quienes obtuvieron un promedio de crecimiento diario de 2,1 mm en su grupo control y 3,0 mm en las yeguas tratadas con 6,25 mg de pFSH. Sin embargo, a pesar de obtener un promedio de crecimiento folicular diario mayor, no obtuvieron una respuesta superovulatoria.

Al no haber diferencias significativas en los diámetros ováricos a la ovulación, podemos asumir que el protocolo no genera alteración en la dinámica del ovario durante el ciclo estral de la yegua.

Al analizar la variación no significativa en el diámetro folicular y en el tamaño ovárico tanto al día de la ovulación como 10 días previos a esta, nos señala que este tratamiento de superestimulación ovárica no debiese modificar la calidad de los ovocitos. Sin embargo, al no realizar la IA o monta natural, no sabemos si se afecta la calidad de los folículos, la fertilidad de la yegua, o si la calidad los embriones obtenidos a partir de este protocolo, sean los ideales para al realizar una TE.

A pesar de que en la literatura se menciona que la yegua no es un animal diseñado para ovular más de un ovocito por ciclo (Mossman y Duke, 1973; Allen, 1982), en los estudios actuales se demuestra que es posible.

Finalmente se debe considerar que aun teniendo éxito en lograr superovular una yegua, es necesario encontrar una técnica lo suficientemente efectiva, la cual no tenga costos muy elevados para así poder maximizar la eficiencia de la TE y disminuir los costos de la misma.

CONCLUSIÓN

Al administrar 16 mg de pFSH es posible obtener ovulaciones dobles en yeguas fina sangre chilena, logrando una tasa de ovulación de 1,57. Con dosis menores (8 mg) no se tiene efecto.

Sin embargo, cabe cuestionar el uso masivo de este tratamiento, ya que se incrementan considerablemente los costos de la TE, además de ser muy variable la respuesta al tratamiento en cada individuo.

Sin duda se considera necesario continuar investigando para encontrar una forma de superovular yeguas con resultados completamente consistentes, ya que entre los distintos protocolos siguen habiendo grandes diferencias entre los resultados de distintos investigadores.

BIBLIOGRAFÍA

ABRIL, J.; CASTRO, J.; PORRAS, J. 2007. Evaluación del tratamiento superovulatorio con extracto de hipófisis equina en yeguas criollas. *Rev. de Med. Vet.* (14):51-60.

ADAMS, G.P.; BOSU, W.T.K. 1988. Reproductive physiology of the non pregnant mare. *Vet. Clin. North Am. Equi. Pract.* (4):161-173.

ALLEN, W.R. 1982. Embryo transfer in the horse. **In:** *Mammalian eggs transfer*. Ed. CRC Press. Florida, EE. UU. pp. 135-154.

GINTHER, O.J. 1979. Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects. Ann Arbor, McNaughton and Gunn, Inc. 413 p.

HAFEZ, E.S.E. 2002. Caballos. **In:** *Reproducción e inseminación artificial en animales*, 7ª Ed. Interamericana-Mc Graw-Hill. México D.F., México. pp. 199-223.

HUGHES, J.; STABENFELDT, G.; EVANS, J. 1975. The oestrus cycle of the mare. **In:** *Equine Reproduction*. 1ª Ed. Blackwell Scientific Publications Ltd. Oxford, London. pp. 161-166.

JOANNE, E.; FORTUNE, T.; KIMMICH, T. 1993. Purified pig FSH increases the rate of double ovulation in mares. *Equi. Vet. Jou.* (25):95-98.

JOHNSON, A.L.; BECKER, S.E. 1993. Hormonal control of ovulation in the mare. *Anim. Reprod. Sci.* 33:209-226.

LE BLANC, M. 1998. Enfermedades del aparato reproductivo: La yegua. **In:** Calahan, P.; Mathew, I.; Merritt, A.; Moore, J. 4ª edición. American Veterinary Publication Inc. California, Estados Unidos. pp. 899-927.

LOGAN, N.L.; McCUE, P.M.; ALONSO, M.A.; SQUIRES, E.L. 2006. Evaluation of three equine FSH ovulation protocols in mare. *Anim. Reprod. Sci.* 102:48-55.

MEYERS-BROWN, G.; BIDSTRUP, L.A.; COLGIN, M.; FAMULA, T.R.; ROSER, J.F. 2011. Treatment with recombinant equine follicle stimulating hormone (reFSH) followed by recombinant equine luteinizing hormone (reLH) increases embryo recovery in superovulated mares. *Anim. Reprod. Sci.* 128:52-59.

MOSSMAN, H.W.; DUKE, K.L. 1973. Comparative morphology of the mammalian ovary. Univ. of Wisconsin Press. Wisconsin, EE. UU. 461 p.

PEREZ, C. 2010. Evaluación folicular y diagnóstico de gestación en yeguas. Memoria título Médico Veterinario Zootecnista. Morelia, México. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 55 p.

RAZ, T.; CARD, C. 2009. Efficiency in superovulation and in vivo embryo production in eFSH treated donor mares after oestrus synchronization with progesterone and estradiol-17 β . *Theriogenology* 72:169-178.

SCHMEISSER, H. 1992. Estudios iniciales de recolección y transferencia de embriones en un criadero equino. Memoria Título Médico Veterinario. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. Fac. de Cs. Veterinarias. Instituto de Reproducción Animal. 56 p.

SINERVIA. 2007. Compendio de Reproducción Animal. 9ª Ed. Intervet. Uruguay / Paraguay. pp: 129-167.

STABENFELDT, G.; HUGHES, J.; EVANS, J.; GESCHWINDS, I. 1975. Unique aspects of the reproductive cycle of the mare. **In:** Equine Reproduction. 1ª Ed. Blackwell Scientific Publications Ltd. Oxford, London. pp: 155-160.

TORRES, J. 2012. Puntos críticos en un programa de transferencia embrionaria. **In:** I Congreso Solidario de Clínica Equina. Madrid, España. 20-22 Abril del 2012. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria. pp. 108-113.

VANDERWALL, D. 2000. Técnicas Actuales de Transferencia Embrionaria Equina. **In:** BALL, B. (ed.). Recent Advances in Equine Reproduction, B. A. Ball (ed.). International Veterinary Information Service (IVIS). New York, USA.

VIVO, R.; VINUESA, M. 1993. Diámetro del folículo preovulatorio y vesícula embrionaria en yeguas árabes y pura raza española. *Arch. Zootec.* 42(158):267-271.

VON FREY, W. 1984. Algunas características reproductivas de los equinos. **In:** II Jornadas en Ciencias Veterinarias: Clínica y Producción Equina, Universidad de Chile. 99 p.