



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



“DESCRIPCIÓN DE LA ASOCIACIÓN ENTRE LA
OVULACIÓN Y LA FIJACIÓN DEL EMBRIÓN EN EL
CUERNO UTERINO EN YEGUAS FINA SANGRE DE
CARRERA”

MARÍA ALEJANDRA GUARDA VILLAR

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias Clínicas

PROFESOR GUIA: DR. ADOLFO GODOY PINTO.

SANTIAGO, CHILE

2010

Esta memoria de título fue posible realizarla gracias a la ayuda y colaboración del Dr. Sergio Carvajal B. quien estuvo presente durante toda su realización.

Mis más sinceros agradecimientos a quien hizo posible que lograra mi título profesional de Médico Veterinario.

Índice.

1. Resumen.....	1
2. Summary.....	3
3. Introducción.....	5
4. Revisión Bibliográfica.....	7
4.1. Ciclo Reproductivo de la Yegua.....	7
4.1.1. Anestro.....	7
4.1.2. Período de transición en la estación reproductiva.....	8
4.1.3. Estación fisiológica reproductiva.....	10
4.1.4. Período de transición posterior de la estación reproductiva.....	10
4.2. Ciclo Estral de la Yegua.....	10
4.2.1. Estro.....	10
4.2.2. Ovulación.....	11
4.2.3. Diestro.....	12
4.3. Control Endocrino del Ciclo.....	12
4.3.1. Hormona folículo estimulante.....	13
4.3.2. Estrógenos.....	14
4.3.3. Hormona luteinizante.....	14
4.3.4. Progesterona.....	15
4.3.5. Prostaglandina.....	15
4.4. Fertilización.....	16
4.5. Traslado del Embrión por el Oviducto.....	17
4.6. Características de la Vesícula Embrionaria Equina.....	17
4.6.1. Reconocimiento temprano de la gestación.....	19
4.6.2. Cápsula embrionaria.....	19
4.7. Movilidad del Embrión.....	20
4.8. Fijación del Embrión.....	22
4.9. Implantación y Placentación.....	23
4.10. Uso de la Ultrasonografía.....	25
4.10.1. Características Ecográficas de la Vesícula Embrionaria.....	25
5. Hipótesis.....	31

6.	Objetivo General.	31
7.	Objetivos Específicos.	31
8.	Material y Métodos.	32
8.1.	Lugar del Estudio.	32
8.2.	Animales.	32
8.3.	Características Estudiadas.	32
8.3.1.	Ovulación.	33
8.3.2.	Fijación.	33
8.3.3.	Sexo.	34
8.4.	Tamaño de la Muestra.	34
8.5.	Análisis Estadístico.	34
9.	Resultados y Discusión.	36
9.1.	Porcentaje de Ovulación y Fijación.	36
9.2.	Asociación entre el lado de Ovulación y Fijación.	39
9.3.	Relación entre Fijación y Sexo del Embrión.	41
10.	Conclusiones.	44
11.	Bibliografía.	45

1. Resumen.

La fertilidad en caballos salvajes es alta, pero a medida que el proceso de producción equina se intensifica disminuye considerablemente. También se debe agregar que en la hípica, la selección de reproductores se realiza por pedigrí, rendimiento deportivo y conformación, dejando de lado las características reproductivas. Por esta razón, muchas veces se ocupan reproductores con problemas de fertilidad.

Este estudio evaluó la asociación entre el lado de ovulación y el lado de implantación del embrión equino en yeguas Fina Sangre de Carrera (FSC), raza donde está prohibida la biotecnología reproductiva. Por esto, investigar la asociación entre la ovulación e implantación puede ser una herramienta eficiente para tener éxito en las tasas de preñez cuando se utilizan reproductoras con problemas de fertilidad.

Se utilizaron las fichas clínicas de 100 yeguas FSC en edad reproductiva, las cuales se encontraban paridas o sin preñez del año anterior, provenientes de dos haras ubicados en la zona central de Chile. En ambos haras se utilizó el mismo manejo reproductivo en la estación de montas. Las yeguas fueron expuestas diariamente ante a un potro celador y aquella hembra que se encontró en celo, se evaluó en forma rutinaria por palpación rectal y ultrasonografía para monitorear el folículo dominante, estimar la ovulación y efectuar la monta. Luego, 12 días después se realizó el diagnóstico de gestación y al día 20 se estableció el lado de fijación del embrión en el cuerno uterino. Así, gracias a la ecografía se determinaron las variables; lado de ovulación y lado de fijación. Al momento del nacimiento por inspección se estableció el sexo de la cría.

El 50% de yeguas ovularon desde el ovario izquierdo, mientras que el 50% lo realizó por el ovario derecho. En cuanto a la fijación, 52% de los embriones se implantaron en el cuerno uterino izquierdo, mientras que 48% lo realizó por el cuerno uterino derecho. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los lados de ovulación, como tampoco entre los sitios de fijación ($p > 0.05$). No existió una asociación significativa ($p > 0.05$) entre el lado de ovulación e fijación, o sea fue aleatorio.

En relación al porcentaje de machos y hembras nacidos, 49 resultaron hembras, mientras que 51 ejemplares fueron machos. Estas proporciones no fueron significativas ($p > 0.05$), sino que ocurrieron aleatoriamente. En relación al sexo y fijación en el cuerno uterino, 26

machos se implantaron en el cuerno izquierdo, mientras que 25 lo realizaron en el cuerno derecho. En el caso de las hembras, 26 de ellas también se implantaron en el cuerno izquierdo, y sólo 23 lo realizaron en el cuerno derecho. Diferencias que tampoco fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

Se concluyó que todas las variables analizadas en esta memoria y sus respectivas asociaciones fueron fenómenos aleatorios.

2. Summary.

Fertility in wild horses is high, however when the process of equine's production is intensified, the fertility is reduced considerably. It should also be added that in the horse riding, the selection of the breeding horses is done by pedigree, conformation and athletic performance, leaving aside reproductive characteristics. For this reason, many times horses with fertility problems are used.

This study evaluated the relationship between the side of ovulation and the side of embryo fixation in Thoroughbred mares, race in which reproductive biotechnology is forbidden. Therefore, investigating the association between ovulation and fixation can be an efficient tool for success in the pregnancy when breeding horses with fertility problems are used.

One hundred medical records were used in Thoroughbred mares in breeding age, which were lactating or barren, in two commercial stud farms situated in the central zone of Chile. In both stud farms the same management was used in the breeding season. Oestrous detection in mares was carried out daily by teasing with a trained pony stallion. Both ultrasonographic examination and transrectal palpation of the ovaries were performed daily to follow the development of the dominant follicle and confirm ovulation. The time of first pregnancy examination was in day 12; after this, the side of embryo fixation was recorded at the next examination day 20. Because of the ultrasonography, the side of ovulation and the side of embryo fixation were determined.

The 50% of the mares ovulated from the left ovary, while the other 50% did it from the right side. On the relative distribution of the side of embryo fixation, 52% of the pregnancies fixed in the left uterine horn and the remaining 48% did it in the right horn. There was no significant difference ($p > 0.05$) between the sides of ovulation or of fixation. Neither it was a significant association between the side of ovulation and the side of fixation, it was random.

In relation to the percentages of male and female born, 49 were females, while 51 were males. These proportions did not differ ($p > 0.05$), but occurred randomly. In relation to sex and fixation in the uterine horn, 26 males were implanted in the horn left, while 25 were carried out in the right horn. In the case of females, 26 were also implanted in the left horn

and only 23 were carried out in the right horn. Results did not statistically significant ($p > 0.05$).

It was concluded that all the variables analyzed in this report and their associations occurred randomly.

3. Introducción.

La meta principal de la reproducción equina es obtener una cría al año, pues si se invierte en alimentación, manejo e infraestructura, tanto de las yeguas como de los sementales y no se produce una cría en este transcurso de tiempo, la relación costo- beneficio aumenta, haciendo muy poco rentable el negocio.

La fertilidad en caballos salvajes es alta, pero a medida que el proceso de producción equina se intensifica disminuye considerablemente. En granjas manejadas correctamente se obtienen tasas de preñez de 90- 95% y tasas de nacimiento entre 70 y 75% (Mckinnon, 2009). Esto se debe a las características propias del ciclo reproductivo de esta especie como un patrón estacional de ovulación, ciclos irregulares durante el período de transición entre el anestro y ciclicidad normal, fase folicular larga, promedio de gestación 342 ± 10 días y gestación de mellizos en un 10 a 15%, entre otras (Johnson y Becker, 1993; Muñoz, 1995; Gómez-Cuétara y Mateos, 1996; Wolfsdor, 2006; Mckinnon, 2009).

En la hípica, la selección de reproductores se realiza por pedigrí, rendimiento deportivo y conformación, dejando de lado las características reproductivas. Por esta razón, muchas veces se ocupan reproductores viejos y/o con problemas degenerativos en el aparato reproductor, lo que disminuye la fertilidad, dificultando el trabajo (LeBlanc, 2008).

En la yegua, la gestación se lleva a cabo en la base de uno de los cuernos uterinos, donde se desarrollará el embrión (Meira *et al.*, 1998). Pero, en muchas ocasiones ocurre que el útero se encuentra con alteraciones degenerativas, en especial en yeguas de edad avanzada, lo que dificulta la preñez. Por esto, lo ideal sería que el embrión se implantara en el cuerno uterino con menos alteraciones, lo que no siempre ocurre.

En los caballos FSC está prohibida la biotecnología reproductiva. Por esto, estimar la asociación entre la ovulación e implantación podría ser una herramienta eficiente para tener éxito en las tasas de preñez, al asegurar que el embrión se implantará en el cuerno uterino con menos alteraciones, aumentando la tasa de fertilidad y los potrillos nacidos por temporada.

En la raza FSC existe una temporada de monta definida, de Agosto a Diciembre, donde el principal objetivo es obtener crías al inicio de la temporada, disponiendo de un corto periodo para lograr nuevamente la preñez de las yeguas. Si el lado de ovulación estuviera

asociado al lado de implantación se ahorraría bastante tiempo al manipular el lado de ovulación en vez de esperar que el embrión se implantara al día 17 de gestación en un cuerno uterino no adecuado.

El sexo juega un papel importante en determinar el éxito de los caballos en diferentes actividades deportivas. Por ejemplo, se prefieren animales castrados para eventos de tres días y las yeguas son las preferidas para jugar polo (Palma, 2001). Evaluar la asociación entre el lugar de implantación del embrión y el sexo de la cría, junto con el porcentaje de machos y hembras nacidos, puede ser beneficioso para manipular a bajo costo el sexo del equino.

Dado que no existe suficiente información con respecto al lado de ovulación y fijación del embrión en el cuerno uterino, como tampoco acerca del sexo de la cría y su asociación con algún parámetro reproductivo. Se hace necesario el estudio de las asociaciones de las variables anteriormente señaladas.

4. Revisión Bibliográfica.

4.1. Ciclo Reproductivo de la Yegua.

La yegua es una hembra poliéstrica estacional, presentando ciclos ovulatorios durante la primavera y verano, limitando a sólo unos meses la época de reproducción. El ciclo reproductivo de la yegua se puede dividir en 4 períodos: Anestro, período de transición en la estación reproductiva, la estación fisiológica reproductiva y el período de transición fuera de la estación reproductiva (Frazer, 2005; McKinnon, 2009).

El fotoperíodo (aumento de las horas luz/día) es el principal factor ambiental que afecta la estacionalidad reproductiva de los équidos (Ginther, 1993; Johnson y Becker, 1993; LeBlanc, 1999).

4.1.1. Anestro.

El anestro se produce durante los días más cortos del invierno y se caracteriza por la incapacidad reproductora de la yegua (Frazer, 2005). Usualmente este período abarca los meses de mayo, junio, julio y agosto en el hemisferio sur. Durante esta etapa los ovarios se encuentran pequeños e inactivos, el útero es flácido y no ocurre la ovulación. La concentración de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) secretada por el hipotálamo, indica un bajo nivel y baja tasa de secreción, en consecuencia se encuentran en niveles muy bajos las concentraciones de hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH) liberadas por la hipófisis (Le Blanc, 1999; Frazer, 2005; McKinnon, 2009).

Debido a esta reducción de hormonas circulantes se reduce considerablemente la función de los ovarios con folículos de diámetros menores a 5 mm., la secreción de estradiol y progesterona se hace imperceptible y se pierde la receptividad sexual (Frazer, 2005).

Existen yeguas que ciclan durante todo el año y la administración de melatonina no produce el anestro estacional característico de dichos animales, sugiriendo que la duración del día y la inhibición del eje hipotálamo-hipófisis-ovario por la melatonina no es el único factor para la aparición del anestro en las yeguas. La condición corporal es importante en la ciclicidad reproductiva, donde yeguas con pérdida de peso muy marcada

prolongan el anestro estacional y, por el contrario, hembras muy engrasadas continúan ciclando durante la temporada de anestro (Fitzgerald y McManus, 2000).

La hormona leptina está en directa relación con el peso corporal y el estado de engrasamiento. Aumentos en las concentraciones de esta hormona estimulan el eje hipotálamo-hipófisis-ovario durante los días largos, encontrándose altos niveles durante la fase folicular y luteal, en relación al anestro donde se encuentra en bajas cantidades (Ferreira-Días *et al.*, 2005).

4.1.2. Período de transición en la estación reproductiva.

Por un aumento del fotoperíodo la yegua entra en un período de transición entre la temporada anovulatoria (anestro) y la primera ovulación. Es una etapa que se caracteriza por un resurgimiento de la actividad folicular, conducta irregular de estro y reanudación de la secreción de las gonodotrofinas y los esteroides ováricos (LeBlanc, 1999; Cuerva-Arango y Clark, 2010).

Durante esta etapa es frecuente que se produzcan anomalías en el desarrollo folicular y ovulación, como el desarrollo simultáneo de varios folículos, la presencia de folículos hemorrágicos y luteinizados o que el folículo aparentemente preovulatorio se atresia y es remplazado por otro; así como alteraciones en el comportamiento sexual, como celos muy largos y poco intensos o erráticos, lo que provoca complicaciones en el manejo (Gómez-Cuétara y Mateos, 1996).

El primer proceso en la transición es un aumento en la GnRH observable dentro de la primera semana después del solsticio de invierno o dos semanas posteriores a la exposición a un fotoperíodo aumentado artificialmente. Esto conduce a un aumento de FSH a partir del almacenamiento disponible en la hipófisis, pero los niveles de LH permanecen bajos. El tercer proceso es el desarrollo folicular a consecuencia del aumento de GnRH y FSH. Pero éstos folículos presentan menor velocidad de crecimiento y menor producción estereidogénica (LeBlanc, 1999; Frazer, 2005).

A medida que progresa la estación de transición los niveles basales de LH comienzan a elevarse. La LH es esencial para inducir la maduración y ovulación folicular al final del período de transición (McCue *et al.*, 2001).

Una vez producida la primera ovulación, el período de transición finaliza y se da inicio a la estación reproductiva (Frazer, 2005).

Es esencial en la industria del Fina Sangre de Carrera, producir crías a principios de la temporada reproductiva para maximizar los precios obtenidos en el remate de los productos y mejorar el rendimiento deportivo. Arbitrariamente, independiente de su fecha de nacimiento, los caballos de esta raza, en el hemisferio sur, cumplen años el primero de Julio, fecha que coincide con el período de anestro. Por esto es esencial adelantar la primera ovulación, existiendo diferentes tratamientos, siendo los más utilizados los que se describen a continuación.

Se ha demostrado la eficacia de exponer a la luz artificial 12 a 15 hrs diarias durante 30 - 60 días antes de la estación reproductiva, con el fin de adelantar la primera ovulación de la temporada. Este régimen tiene una respuesta variable entre los individuos, pues depende del grado de actividad folicular en el momento que se inicie la exposición de luz. La gran limitante es que exige el confinamiento de los animales con la consecuente infraestructura y mano de obra (Gómez- Cuétara y Mateos, 1996).

Los progestágenos también se han utilizado eficientemente en el período de transición. Existen dispositivos intravaginales que liberan progesterona o progesterona más estradiol que han demostrado exitosamente adelantar la primera ovulación, reducir el número de servicios por ciclo en el período de transición y ahorrar en el uso del semental. El dispositivo debe actuar durante 10- 15 días, posteriormente se retira produciéndose la ovulación en los próximos seis a siete días. Los resultados son satisfactorios cuando se utiliza desde mediados del período de transición o en animales que previamente se han expuesto a luz artificial. También existe la progesterona inyectable, que se utiliza diariamente por 10- 15 días con los mismos resultados que los dispositivos intravaginales, pero resulta engorroso y necesita personal (Ramírez, 2001; Newcombe, 2002).

Otro tratamiento usado es la infusión pulsátil y continua de GnRH y sus agonistas sintéticos en pequeñas dosis. La administración continua de GnRH de 2,5-5 mg/ h, durante ocho a 28 días, provoca un aumento de la LH y crecimiento de un folículo dominante hasta el tamaño de la ovulación y la ovulación espontánea. Pero es una medida engorrosa que necesita personal de trabajo. Por el contrario, implantes de agonistas GnRH sintéticos han demostrado ser ineficientes, sugiriendo una pérdida de sensibilidad de los receptores a gonadotrofina (Williams *et al.*, 2007).

4.1.3. Estación fisiológica reproductiva.

La estación reproductiva se caracteriza por la recurrencia regular de ciclos de estro y diestro durante todo el verano, a menos que se produzca la gestación (Frazer, 2005).

4.1.4. Período de transición posterior de la estación reproductiva.

La transición de la capacidad de la reproducción en la estación reproductiva hacia la tranquilidad o reposo característico del anestro. El período de la declinación reproductiva tiene una variación mucho mayor durante el otoño que en el período de reaparición de la reproducción en primavera. La transición otoñal se caracteriza por la pérdida gradual del apoyo gonadotrófico para la función ovárica, dando lugar a la reducción del desarrollo folicular. El acto final de la transición otoñal puede ser el desarrollo de un gran folículo preovulatorio que no puede ovular (Frazer, 2005).

4.2. Ciclo Estral de la Yegua.

El ciclo estral de la yegua comienza a manifestarse en la pubertad (10 y 24 meses de edad). Cada ciclo dura, en promedio, 21 días y se define como un patrón de acontecimientos fisiológicos y conductuales bajo control hormonal que se divide en dos períodos: estro y diestro. El ciclo es el período que transcurre entre una ovulación y otra, cuando las ovulaciones están acompañadas por signos de estro y/o cuando la concentración plasmática de progesterona es inferior a 1 ng/ml (Le Blanc, 1999; Morel, 2003).

4.2.1. Estro.

El estro se define como el período de receptividad sexual de las yeguas al semental. Esta conducta se caracteriza por la elevación de la cola, presentación de la zona perianal al potro, micción de pequeñas cantidades de orina, eversión del clítoris y estado de tranquilidad al momento de realizar la monta. El estro tiene una duración aproximada de cinco a siete días (LeBlanc, 1999; Frazer, 2005; Samper, 2008).

En los ovarios se desarrollan los folículos secretando estrógeno, responsable de los cambios a nivel de comportamiento, útero, cérvix y vagina del aparato reproductor, el cual

se encuentra preparado para la recepción y transporte de los espermatozoides, ocurriendo finalmente la ovulación. El examen reproductivo del estro se caracteriza por la relajación del cérvix, encontrándose húmedo, rojo y con secreciones, presencia de folículo dominante y edema del endometrio. (LeBlanc, 1999; Morel, 2003; Frazer, 2005; Samper, 2008).

4.2.2. Ovulación.

A nivel celular, un folículo maduro posee los receptores hormonales y los componentes metabólicos necesarios para responder a una elevación preovulatoria de LH, esta alza induce cambios inflamatorios en la pared folicular que van a permitir que el ovocito se libere del ovario (McDonald, 1991).

La ovulación es espontánea y ocurre antes del pico de LH, mientras los niveles de LH en la sangre siguen aumentando. En general, la ovulación señala el fin del estro en uno o dos días (McDonald, 1991).

Las principales ventajas de predecir el tiempo de la ovulación son: (1) un servicio por ciclo para sementales con una alta demanda, (2) planificar el transporte de la yegua hacia el semental, (3) reducción de la contaminación del útero, sobre todo en yeguas con mayor susceptibilidad a infecciones uterinas, (4) inseminaciones cerca de la ovulación para transportar el semen refrigerado, congelado o fresco y para sementales con baja fertilidad, (5) garantizar los intervalos adecuados entre los servicios naturales de un semental, (6) sincronización entre yeguas donantes y receptoras en programas de transferencia de embriones, y (7) reducción de la mano de obra y gastos veterinarios (Samper, 2008).

Las hormonas más efectivas para inducir la ovulación poseen actividad LH con un grado variable de actividad FSH. La gonodotrofina coriónica humana (hCG), con actividad LH es efectiva en dosis de 1000- 5000 UI, administrada por vía intramuscular, intravenosa o subcutánea, donde se obtiene la ovulación 36 horas posterior a la administración. Los análogos sintéticos de la hCG también dan resultados satisfactorios para inducir la ovulación; el acetato de deslorelina y la buserelina dan resultados a las 41 - 48 y 24 - 48 horas, respectivamente (Frazer, 2005). Estos agentes son máximamente eficaces cuando se administran a las yeguas con un edema endometrial evidente, un cuello uterino relajado y un folículo mayor a 35 mm de diámetro (Samper, 2008).

4.2.3. Diestro.

El diestro tiene una duración muy regular de aproximadamente de 15- 17 días y se caracteriza por el rechazo al semental, presencia de cuerpo lúteo, cérvix firme y ausencia de edema uterino (Ginther, 1993; LeBlanc, 1999; Samper, 2008).

El diestro es la fase del ciclo estral durante la cual el cuerpo lúteo se desarrolla anatómica y funcionalmente produciendo progesterona, mientras los órganos reproductores se encuentran bajo su influencia (McDonald, 1991).

El cuerpo lúteo produce progesterona, responsable de bloquear el comportamiento de celo, cambiando la secreción y el desarrollo de las glándulas endometriales y el cierre del cérvix. La producción de progesterona por el cuerpo lúteo continúa hasta que se inicie la secreción de Prostaglandina F₂ alfa (PGF₂α) desde el endometrio, induciendo la luteólisis o lisis del cuerpo lúteo, por lo tanto, las concentraciones de progesterona comienzan a disminuir (Frazer, 2005; Ginther *et al.*, 2007).

Durante el diestro temprano el epitelio del útero prolifera en preparación para la implantación del embrión, donde sus células se activan tomando forma columnar y el epitelio glandular aparece vacuolado. En esta etapa el cervix se encuentra estrechamente cerrado, formando un sello hacia la entrada del útero con una apariencia pálida, firme y seca (Morel, 2003).

4.3. Control Endocrino del Ciclo.

El control endocrino del ciclo estral es gobernado por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, influenciado por el fotoperíodo, la nutrición y la temperatura del medio ambiente (Morel, 2003).

La duración del día es percibida por la glándula pineal ubicada en la base del cerebro, quien secreta melatonina en presencia de oscuridad. Bajo el estímulo de días cortos aumenta la melatonina quien inhibe la actividad del eje. El aumento de la duración del día estimula la producción de GnRH por el hipotálamo (LeBlanc, 1999; Morel, 2003).

La liberación de GnRH es de carácter tónico y pulsátil, donde la amplitud y frecuencia varían a lo largo del ciclo. Un aumento de la amplitud, frecuencia o actividad tónica de las secreciones provoca un aumento en el promedio de las concentraciones. El 80% de la

GnRH liberada por el hipotálamo, pasa directamente por un sistema portal especializado hacia la hipófisis anterior, razón por la cual el nivel de GnRH en circulación es relativamente bajo. En respuesta a la GnRH, la hipófisis anterior produce las gonodotrofinas FSH y LH quienes actúan en los ovarios, su órgano blanco (LeBlanc, 1999; Morel, 2003).

4.3.1. Hormona folículo estimulante.

La FSH es responsable de la estimulación del desarrollo folicular, oleadas de FSH estimulan las ondas foliculares. En yeguas, se desarrollan dos oleadas foliculares anovulatorias, seguidas por una ola ovulatoria en cada ciclo estral. La aparición de una onda folicular está temporalmente asociada a un aumento en circulación de la FSH y hasta diez folículos pueden ser reclutados por el aumento de FSH, pero sólo se seleccionará uno o dos para desarrollarse y finalmente ovular (Ginther y Bergfeld, 1992; Ginther y Bergfeld, 1993; Morel, 2003, Ginther *et al.*, 2009).

La FSH comienza a aumentar a partir del día 15 del ciclo, alcanzando su máximo nivel alrededor de la ovulación durante el celo (Morel, 2003).

Las hormonas de control para la regulación de la secreción de FSH son la inhibina y el estradiol, secretadas por el ovario. En yeguas ovariectomizadas la administración de estradiol e inhibina disminuyen los niveles de FSH (LeBlanc, 1999; Donadeu y Ginther, 2003).

La inhibina es secretada por las células de la granulosa durante el desarrollo folicular, en consecuencia, las concentraciones de inhibina son mayores durante la fase folicular cercana a la ovulación, que durante la fase luteal. Esta hormona tiene una relación inversa con los niveles de FSH preovulatorios, siendo responsable de la regulación de la FSH y la folículogénesis. La inhibina actúa modulando por retroalimentación negativa la secreción de FSH y GnRH (Bergfelt *et al.*, 1991; Morel, 2003).

4.3.2. Estrógenos.

Al desarrollarse los folículos producen estrógenos; siendo el más importante el estradiol-17 β . Estos son esteroides ováricos, producidos por la interacción entre las células de la teca interna y las células de la granulosa. Las células de la teca convierten el colesterol en progesterona y luego en androstenediona, que se difunde a las células de la granulosa, donde se convierten en estradiol-17 β por la acción catalizadora de la enzima aromatasa, cuya actividad depende de la FSH (LeBlanc, 1999; Morel, 2003).

Los niveles circulantes de estrógenos alcanzan su máximo 24- 48 hrs previo al momento de la ovulación, posteriormente comienzan a disminuir rápidamente. Esta disminución se asocia con la liberación de las células de la granulosa hacia el líquido folicular durante la ovulación, dejando sólo a las células de la teca produciendo progesterona (Allen *et al.*, 1995; Morel, 2003).

A medida que aumentan los niveles de FSH, los niveles de estrógenos también aumentan, alcanzando su máxima expresión durante el celo, lo que garantiza que el máximo desarrollo folicular y la ovulación ocurran durante el celo (Morel, 2003).

4.3.3. Hormona luteinizante.

Los niveles de LH son bajos durante la mitad del diestro, pero comienzan a elevarse unos pocos días antes del estro, alcanzando la máxima concentración uno a dos días después de la ovulación. El pico de LH es de tipo bifásico, ocurriendo la ovulación en el primer pico, a pesar que el segundo es de mayor intensidad. Pocos días después de la ovulación las concentraciones de LH decaen, durante el período de diestro (Ginther, 1993; Morel, 2003; Ginther *et al.*, 2006).

El aumento de LH es responsable de la maduración final del folículo y la inducción de la ovulación, donde el aumento de frecuencia y amplitud de pulsos son en gran parte responsables del pick de LH. Otro evento asociado es el aumento de los receptores de LH en las células de la teca del folículo, proporcionando más progesterona que difundirá hacia las células de la granulosa para la conversión de estradiol-17 β , que reafirma el comportamiento de estro (Morel, 2003).

4.3.4. Progesterona.

Las concentraciones de progesterona son bajas durante el estro. Posterior a la ovulación (día 0), a partir del día 2, la progesterona comienza a aumentar sus niveles sanguíneos hasta el día 6, donde alcanza su máxima concentración. Luego, si la yegua no ha concebido, comienza a disminuir lentamente hasta el día 14, donde ocurre la luteólisis y sus niveles comienzan a caer drásticamente detectándose <2 ng/ ml al día 16 (LeBlanc, 1999; Morel, 2003; Ginther *et al.*, 2006).

La progesterona tiene un efecto inhibitorio sobre la liberación de gonadotrofinas, por lo tanto, el celo no puede iniciarse hasta que los niveles de progesterona hayan caído por debajo de 1 ng/ ml en la mayoría de las especies domésticas. Sin embargo, en la yegua la progesterona no parece tener un efecto inhibitorio sobre la FSH, quien aumenta entre los días 10-12 posterior a la ovulación a pesar de las concentraciones elevadas de la progesterona (Morel, 2003).

4.3.5. Prostaglandina.

En ausencia del embrión, el útero secreta prostaglandina F₂α (PGF₂α), un potente agente luteolítico que se transporta hacia los ovarios a través de la circulación sistémica, a diferencia de los rumiantes domésticos que poseen una ruta local. La yegua es 18 veces más sensible a la administración de PGF exógena en comparación a los rumiantes (Ginther, 2009). Un estudio con Doopler color demostró que en la yegua no aumenta el flujo de sangre hacia los ovarios al administrar PGF para estimular la luteólisis del cuerpo lúteo (Ginther *et al.*, 2008).

Los niveles de PGF₂α se detectan entre los días 14 y 17 post ovulación, inmediatamente antes de que comiencen a declinar los niveles de progesterona. La disminución de los niveles de progesterona, en respuesta a la secreción de PGF₂α, elimina cualquier inhibición de la liberación de gonadotrofinas, que permite los cambios hormonales asociados con el celo y la ovulación próximas a venir (Morel, 2003).

Las prostaglandinas (PG) se utilizan para inducir el estro. En una yegua que está ciclando normalmente las PG inducen el término de la fase luteal. Para ésto se utilizan 5 mg de PGF₂α o 250 mg de cloprosterol a partir del 5° día post ovulación. Luego de la aplicación,

se inicia el estro tres a cuatro días después y ocurre la ovulación ocho a 10 días posteriores a la aplicación (Samper, 2008).

4.4. Fertilización.

El ovocito equino se mantiene detenido en el ovario, en la etapa de profase de la primera división meiótica gracias a los factores del medio ambiente folicular y reanudará su meiosis al liberarse del folículo durante la ovulación. Posterior a la ovulación, el ovocito reanuda el proceso meiótico para detenerse en la segunda profase en espera de la fertilización (Espinoza-Villavicencio *et al.*, 2007).

El óvulo liberado por el folículo se dirige hacia el oviducto en espera de la llegada de los espermatozoides. El semen es eyaculado en la parte superior del cuello uterino o en la porción inferior de éste, para abrirse camino hacia el ovocito, impulsado por las contracciones del tracto femenino y la acción de las colas de los espermatozoides (Morel, 2003).

A medida que los espermatozoides pasan por el tracto femenino, entran en contacto con las secreciones uterinas, que inducen la capacitación de algunas regiones del espermatozoide, una respuesta esencial para fertilizar el óvulo. La fertilización del óvulo ocurre en la región de la ampulla en el oviducto. Una vez en las proximidades del óvulo, los espermatozoides se adhieren a la capa gelatinosa exterior y gracias al trabajo de látigo de sus colas atraviesan esta capa para luego, penetrar la zona pelúcida por la acción digestiva de las enzimas acrosina liberadas desde la cabeza del espermatozoide. La unión de la cabeza del espermatozoide con el vitelo del óvulo reinicia la división meiótica final, dando lugar al núcleo haploide del óvulo que se fusionará con el núcleo haploide del espermatozoide para formar un individuo diploide (Grondahl, 1998; Palma, 2001; Morel, 2003).

La monta del potro debe ser lo más cercana a la ovulación, ya que el óvulo equino es viable y puede ser fertilizado sólo hasta 6-12 hrs post ovulación. Por esto, para maximizar las tasas de preñez se debe conocer el momento exacto de la ovulación y asociarlo al servicio. En el caso de la monta natural no deben pasar más de 48 hrs, con el semen fresco 12 - 24 hrs, mientras que con semen congelado no más de 12 hrs entre el momento de la ovulación y el servicio (LeBlanc, 1999; Samper, 1997).

4.5. Traslado del Embrión por el Oviducto.

A diferencia de otras especies, la yegua tiene un transporte diferencial por el oviducto entre el ovocito y el embrión, donde los ovocitos no fertilizados permanecen almacenados por largo tiempo en el oviducto hasta que degeneran, a diferencia del ovocito fertilizado por un espermatozoide que continúa su camino para entrar al útero entre 144 y 168 hrs después de la ovulación (Battut *et al.*, 1997; Allen, 2000).

El traslado del embrión por el oviducto se produce gracias a los cilios de la mucosa oviductal y la secreción de cantidades apreciables de prostaglandina E2 (PGE2) producidas por el mismo embrión cuando alcanza el estado de mórula. La PGE2 actúa localmente sobre las fibras musculares lisas y circulares en la pared del oviducto y hace que el embrión avance con la ayuda de los movimientos rítmicos de los cilios para entrar al útero, viaje que demora 6 días (Allen, 2000).

4.6. Características de la Vesícula Embrionaria Equina.

Después de la fertilización del óvulo, pasa a denominarse cigoto. Veinticuatro horas posteriores al apareamiento, el cigoto se ha dividido por mitosis en dos células y la capa gelatinosa externa se ha perdido, pero aún dentro de la zona pelúcida se sigue dividiendo en cuatro, 16, 32 células etc. A los cuatro días de edad, es un conjunto de células aún contenida dentro de la zona pelúcida y se denomina mórula. A partir del día seis, el tamaño total comienza a aumentar, lo que contribuye al adelgazamiento de la zona pelúcida, que finalmente se rompe, dejando al embrión rodeado sólo de la cápsula (Morel, 2003).

Aunque el término embrión se emplea rutinariamente para describir el producto inicial, es necesario comprender que lo que se está tratando es la vesícula embrionaria y el embrión en sí mismo (Frazer, 2005).

El embrión equino entra al útero entre 144 y 156 hrs después de la ovulación y se encuentra en estado de mórula tardía o blastocito temprano en fase de desarrollo (Betteridge *et al.*, 1982; Freeman *et al.*, 1992; Battut *et al.*, 1997).

El embrión se convierte en blastocito poco tiempo después que ingresa al útero al día 6 (Betteridge *et al.* 1982). Blastocito es el término que se utiliza cuando se forma una

cavidad central y la masa celular interna se establece en uno de los polos. La masa celular interna será el disco embrionario y eventualmente se convertirá en el embrión, feto y luego potrillo. La membrana que rodea la cavidad blastocítica es una sola capa de células ectodérmicas llamadas trofoblasto que permite la absorción, permanece en contacto con el endometrio y formará la placenta durante la preñez (Ginther, 1998).

Al día nueve sucede la diferenciación de dos capas germinales: el ectodermo, que consiste en la capa del blastocito exterior, y el endodermo, que consiste en el revestimiento celular interno. El endodermo y el ectodermo forman la pared del saco vitelino o blastocele, que actúa como un almacén temporal de nutrientes hasta la implantación. Al día 14 se comienza a desarrollar el mesodermo, el cual se establece entre el ectodermo y el endodermo. Estas tres capas de células germinales son capaces de dar origen a la placenta y el embrión. En el caso de la placenta, el ectodermo forma las capas exteriores de células del epitelio uterino más cercano, el mesodermo formará los vasos sanguíneos y el sistema de transporte de nutrientes y el endodermo forma el revestimiento celular interno, que se convertirá en el saco alantoideo (Ginther, 1998; Morel 2003).

Al día 16, se hacen evidentes los pliegues en la capa celular externa que rodean al embrión, es el inicio de la protección embrionaria. El ectodermo se pliega sobre la parte superior del disco embrionario, envolviendo al mesodermo. La capa exterior de estos pliegues se compone por el ectodermo y mesodermo, llamándose corion. La fusión de estos dos pliegues proporciona una cavidad llena de líquido para el disco embrionario que le brinda protección, el saco amniótico (Ginther, 1998; Morel, 2003).

El saco vitelino es de tres capas y vascularizado en el polo embrionario, y de dos capas en el polo opuesto. El saco vitelino no contiene alimentos almacenados como un huevo de ave, pero gracias a la vascularización se convierte en un proveedor eficiente de material nutritivo del útero para el rápido desarrollo del embrión (Ginther, 1998; Morel, 2003).

Al día 18 el embrión no mantiene su forma esférica, con una tendencia a la forma triangular, debido a la turgencia y engrosamiento de la pared dorsal del útero, el vértice de la vesícula está orientado dorsalmente y la base redondeada se ubica en la zona ventral. Estas formas irregulares no deben considerarse como un signo de desarrollo anormal y un presagio de la pérdida de embriones. La forma es el cambio atribuible a la turgencia y engrosamiento de la pared dorsal del útero (figura 3). Debido a la turgencia del útero, la

vesícula no aumenta su tamaño entre los días 18 y 26, durante este tiempo, se produce un aumento compensatorio longitudinalmente de la vesícula (Ginther, 1998; Morel, 2003).

4.6.1. Reconocimiento temprano de la gestación.

El establecimiento de la preñez implica el reconocimiento materno de la gestación y luego la implantación del embrión. El reconocimiento materno se puede definir como el proceso fisiológico mediante el cual el embrión da señales de su presencia en el sistema de la madre, para que ésta prolongue la existencia del cuerpo lúteo, una característica propia de la gestación de mamíferos. Así, la mantención de la preñez requiere la interacción recíproca entre el embrión y el endometrio (Spencer *et al.*, 2004).

Actualmente no se conoce la señal exacta que secreta el embrión equino para el reconocimiento temprano de la gestación y su mantención, pero el blastocito sintetiza importantes niveles de estrógenos alrededor del día 12 de gestación. Aunque el significado de esta síntesis no se ha establecido aún, se presume que los estrógenos desempeñan un papel fundamental en el mantenimiento de la preñez (Raeside *et al.*, 2004; Raeside *et al.*, 2009).

Durante la gestación temprana el líquido del saco vitelino posee gran cantidad de estrógenos y se presume que la producción de éstos continua más allá de la fase migratoria transuterina que termina alrededor del día 16, debido a que los altos niveles de estrógenos se mantienen y estos podrían influenciar en alguna medida la interacción del trofoblasto con el endometrio antes de establecer un contacto íntimo, en el sentido de una unión estable con microvellosidades, al día 40 (Allen, 2001; Raeside *et al.*, 2009).

4.6.2. Cápsula embrionaria.

Dentro de los animales domésticos el embrión equino es el único que posee cápsula, la cual se desarrolla entre la segunda y tercera semana de gestación. Esta cápsula acelular se encuentra presente durante el estado de blastocito y es producida en gran parte por el trofoblasto, ubicándose entre el trofoblasto y la zona pelúcida (Betteridge, 1989; Ginther, 1998, Albiñ *et al.*, 2003).

Después de un día o dos que el blastocito llega al útero, pierde la zona pelúcida y la cápsula se convierte en la capa exterior, formando una interface entre el embrión y el

endometrio. La cápsula es una capa delgada (3 mm) pero dura, que contiene mucina (anti-adhesiva) y glicoproteínas, que contienen en su mayoría ácido salicílico, galactosa, N-acetil-galactosamina y pequeñas cantidades de glucosa y N-acetil-glucosamina (Betteridge, 1989; Oriol *et al.*, 1993; Chu *et al.*, 1997).

A la cápsula se adjudica gran elasticidad, resistencia y es un apoyo que envuelve al delicado embrión durante la movilidad, proporcionándole la forma esférica. También es importante durante la fijación y orientación, ya que desaparece aproximadamente al día 21, lo que sugiere que su papel se completa poco después de la orientación (Ginther, 1983a).

Al momento de la fijación el embrión se torna flácido, perdiendo su forma esférica y cambia la composición de la cápsula. La fijación coincide con una reducción del ácido salicílico, cambios que contribuyen a la interacción física entre la cápsula y el endometrio, donde finalmente se establecerá la placentación (Arar *et al.*, 2007).

4.7. Movilidad del Embrión.

El embrión llega al útero por el mismo lado de la ovulación y comienza una fase de movilidad uterina que continúa hasta el día 15 - 17. Durante la fase de movilidad, independiente del lado de ovulación, el embrión puede ir a cualquier lugar de la cavidad uterina desde la punta de un cuerno hasta el cuello del útero (Leith y Ginther, 1985; Meira *et al.*, 1998). La vesícula embrionaria es propulsada por contracciones peristálticas del miometrio generando movimientos rítmicos que son estimulados por cantidades apreciables de PGF2 α y PGFE2 liberadas desde el propio embrión, que actúan de manera local sobre el miometrio (Stout y Allen, 2001).

La fase de movilidad es un mecanismo fundamental para el reconocimiento de la gestación, donde se permite el intercambio de señales entre el embrión y el endometrio. Estudios donde se ligan los cuernos uterinos demuestran que los lugares donde transita el embrión poseen mayor tono y contractibilidad uterina (Griffin *et al.*, 1992).

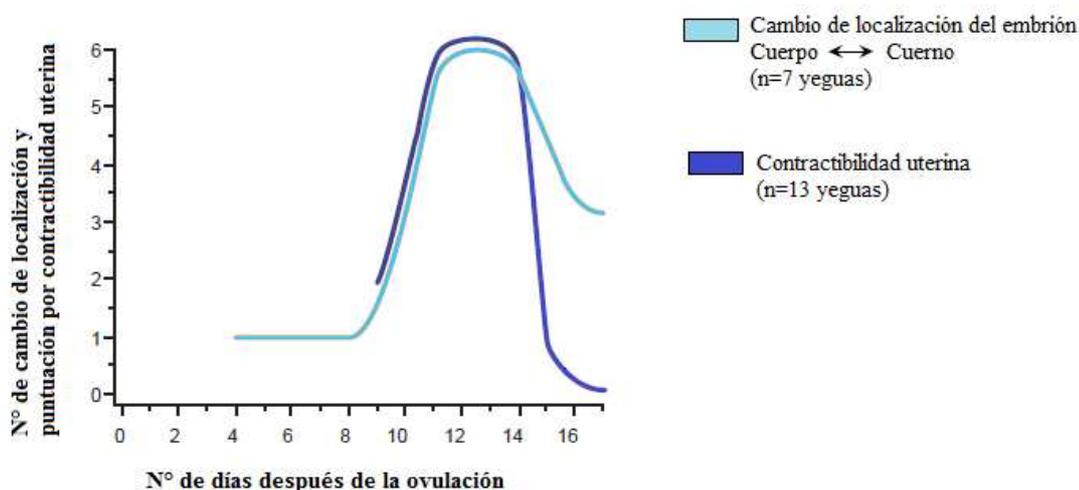
La progesterona secretada por el cuerpo lúteo es esencial en la fase de movilidad y está estimulada por la presencia del embrión en el lumen uterino. La presencia del embrión bloquea el mecanismo de luteólisis con el propósito de mantener los niveles de progesterona, esenciales para la mantención de la preñez. Impedir el movimiento de la

vesícula embrionaria estimula la luteólisis y por ende la disminución de progesterona, poniendo en peligro la gestación (Kastelic *et al.*, 1987; Griffin *et al.*, 1992). Por ejemplo, yeguas que poseen grandes quistes uterinos que impiden el movimiento del embrión a través del útero ponen en riesgo la gestación (Frazer, 2005).

Cuando el embrión es detectado por primera vez en el útero, entre el día nueve y 11 por medio de la ultrasonografía, el 60% de las veces se ubica en el cuerpo uterino. Posteriormente, el embrión entra en su fase de máxima movilidad ubicándose con mayor frecuencia en los cuernos del útero, llegando a recorrer el útero entre 10 y 20 veces diarias. Así coincide el período de mayor contractibilidad uterina con la mayor motilidad embrionaria (Leith y Ginther, 1985; Ginther, 1983b, Gastal *et al.*1996).

El gráfico 1 muestra la relación entre la movilización del embrión y la contractibilidad uterina. A medida que aumentan las contracciones uterinas entre el día ocho y 16, el embrión también aumenta sus cambios de posición dentro del lumen uterino desde los cuerno hasta el cuerpo del útero (Ginther, 1998).

Gráfico 1



El embrión tiende a moverse progresivamente en determinadas direcciones. Cuando se encuentra en la porción craneal de un cuerno uterino tiende a avanzar en dirección caudal, hacia el cuerpo del útero, mientras que al ubicarse en el cuerpo uterino su tendencia es ir hacia craneal en dirección a los cuernos (Leith y Ginther, 1985).

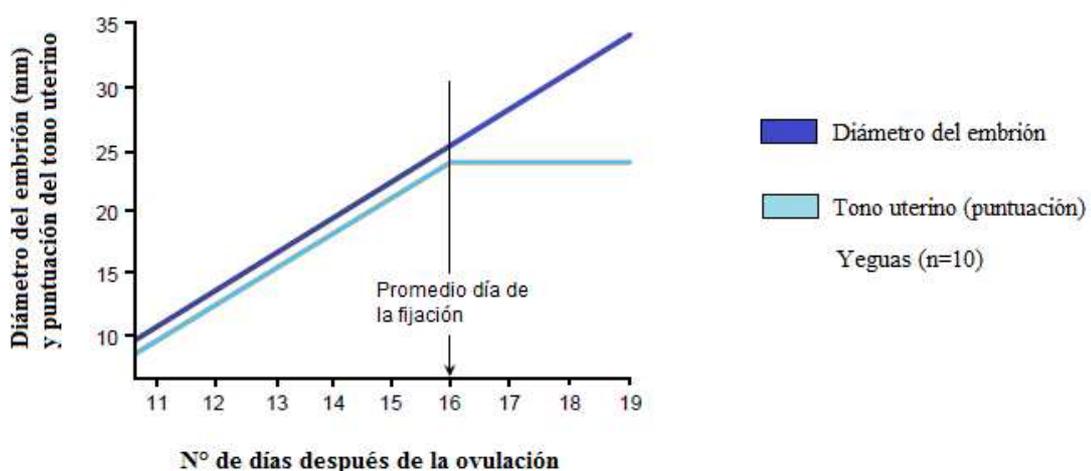
El fenómeno de movilidad debe ser considerado un aspecto importante para diagnosticar gestación por medio de la ultrasonografía, de manera de abarcar toda la extensión de la cavidad uterina en busca de la vesícula embrionaria. Por otra parte, este fenómeno es un aspecto importante para la diferenciación entre embriones y quistes, donde estos últimos no poseen las características móviles. También se puede eliminar manualmente a una vesícula embrionaria de un conjunto doble aprovechando la característica de movilidad (Ginther, 1998).

4.8. Fijación del Embrión.

La fijación se define como el término de la movilidad embrionaria y ocurre en el día 15 en ponies y el día 17 en caballos. Al momento de la fijación, el diámetro de la vesícula embrionaria es de 22 mm, ha crecido a tal punto y el tono uterino ha aumentado disminuyendo su diámetro, que impide el movimiento a través del útero, ocurriendo la fijación en la base de uno de los cuernos uterinos. Al mismo tiempo, comienzan a disminuir las contracciones del miometrio (Ginther, 1983a; Leith y Ginther, 1985; Griffin *et al.*, 1992; Gastal *et al.*, 1996; Meira *et al.* 1998).

El gráfico 2 muestra la relación entre el diámetro del embrión y el tono uterino (Ginther, 1998).

Gráfico 2



A medida que aumentan los días de gestación, también aumenta el tono uterino. El diámetro de la vesícula embrionaria va aumentando de 3 a 4 mm/día durante los días 11 y 15 de gestación. Entre los días 15 y 17, en el momento de la fijación, se detecta un aumento de la vesícula embrionaria de 2 mm/día. De hecho, ésta aparentemente no presenta aumentos significativos entre el día 17 y 24 de gestación, pero entre los días 30 y 48 vuelve a retomar su expansión de 2 a 3 mm/ día (Ginther, 1983a; Ginther, 1998).

Al momento de la fijación, la porción dorsal o mesometrial de los cuernos uterinos se encuentra engrosada, condición esencial para que la vesícula embrionaria rote y se oriente adecuadamente, ya que luego de la fijación ocurre la rotación de la vesícula embrionaria. La orientación de la vesícula embrionaria se refiere a la relación espacial entre la unión mesometrial en el cuerno uterino y la porción bilaminar del embrión, donde el embrión se ubica en el polo contrario a esta unión mesometrial, ventral al saco vitelino. La importancia de la orientación es que coincide con la transición entre el saco vitelino y el saco alantoides y la posterior formación del cordón umbilical (Ginther, 1983a, Ginther y Silva, 2006; Silva y Ginther 2006).

Una vez que la fijación y orientación se han establecido, se hace cada vez mayor la turgencia uterina hacia craneal y caudal de la vesícula embrionaria, impidiendo su movimiento longitudinal y por ende, su desalojo de la cavidad uterina. Más tarde, posterior a la pérdida de la cápsula en el día 21, el trofoblasto se anclará al endometrio para prevenir la rotación (Enders y Liu, 1991).

En una segunda fase de la orientación se produce la inserción del cordón umbilical en posición mesometrial, donde los vasos sanguíneos de las membranas placentarias se reúnen en la zona mesometrial para formar parte del cordón umbilical (Ginther, 1983a, Ginther y Silva, 2006; Silva y Ginther 2006).

4.9. Implantación y Placentación.

A medida que el embrión se desarrolla, aumenta la demanda de nutrientes. Los nutrientes que aporta el saco vitelino son insuficientes para cubrir esta demanda, por lo que se necesita de una relación más íntima entre la madre y el embrión, período que da lugar a la implantación (Allen, 2000; Morel, 2003).

Otra característica única de la embriogénesis equina es el desarrollo del llamado cinturón coriónico en la superficie externa del corion entre los días 25 y 35 después de la ovulación y su posterior invasión al endometrio materno entre los días 36 y 38 para formar las copas endometriales. Al mismo tiempo, un considerable número de linfocitos y otros leucocitos ya se han acumulado en el estroma endometrial alrededor de estas células invasoras del cinturón, lo que indica un reconocimiento inmunológico de la madre hacia el componente paterno del embrión que actúa como antígeno para ser reconocidos por el complejo I de histocompatibilidad, además de otros antígenos extraños que se expresan en la superficie de las células invasoras del trofoblasto (Allen, 2000; Frazer, 2005; Allen y Wilsher, 2009).

Las copas endometriales producen gonadotrofina coriónica equina (eCG), glucoproteína con actividad similar a las hormonas FSH y LH. La liberación de ondas periódicas de FSH por la hipófisis estimula el desarrollo folicular en los ovarios, mientras que la eCG conduce a la luteinización de esos folículos para que los cuerpos lúteos secundarios ya formados, aumenten los niveles de progesterona. Este proceso es crítico para asegurar el mantenimiento de la gestación antes del desarrollo de la placenta y su producción de esteroides por parte de ésta. Al día 120 de gestación desaparecen las copas endometriales por medio de una reacción inmunológica de los linfocitos de la madre (Allen, 2000; Frazer, 2005).

La formación de la placenta comienza recién alrededor del día 70 de gestación. Cuando desaparecen las copas endometriales la placenta ya es capaz de producir altas concentraciones de progesterona para la mantención de la preñez (Morresey, 2004).

La yegua tiene una placenta microcotiledonaria difusa, epiteliocorial, no decidual, única. La placenta equina está constituida por el alantocorion, alantoamnios y el cordón umbilical. La parte coriónica del alantocorion se encuentra adherida al endometrio por medio de los microcotiledones que contactan con el útero con excepción de una zona que corresponde al orificio cervical interno, denominada estrella cervical. El alantocorion es quien abastece al feto dentro del útero. Éste permite el intercambio respiratorio y de nutrientes entre la madre y el feto y es un órgano endocrinológicamente activo que sintetiza y metaboliza hormonas importantes para el mantenimiento y desarrollo fetal. El alantoamnios, al flotar libremente, permite el movimiento libre del feto dentro del útero y sólo se encuentra adherido al alantocorion en una pequeña parte del cordón umbilical. El único contacto entre el feto y el alantoamnios está a nivel del ombligo. El cordón umbilical

posee una porción amniótica y una porción alantoidea. Y también, 2 arterias umbilicales, una vena umbilical y el uraco (Troedsson y Sage, 2001, Frazer, 2005).

4.10. Uso de la Ultrasonografía.

Actualmente el uso sistemático de la ecografía ha permitido mejorar la fertilidad promedio de yeguas FSC. Incorporar la ultrasonografía en forma rutinaria al manejo reproductivo equino entrega numerosas ventajas como: evaluación de los ovarios y sus estructuras (folículos y cuerpos lúteos), especialmente en aquellas yeguas con disfunción ovárica. Determinar el crecimiento folicular y la ovulación. Evaluación del útero principalmente detectando hembras en celo que no lo demuestran frente al potro celador, la presencia de quistes y líquido. Realizar precozmente diagnósticos de gestación y detectar la gestación de mellizos para eliminar con éxito una vesícula embrionaria lo más tempranamente posible (Rantanen y McKinnon, 1998).

La ultrasonografía también se utiliza para evaluar la placenta en hembras preñadas y poder determinar precozmente una insuficiencia placentaria o una placentitis, evitando abortos instaurando rápidamente un tratamiento (Troedsson *et al.*, 1997).

La determinación del sexo fetal actualmente es una práctica común en caballos con alto valor económico. Existen dos métodos ultrasonográficos disponibles para determinar el sexo evaluando los tubérculos genitales. El primer método fue descrito hace 20 años por Curran y Ginther, empleando sólo el uso transrectal de la ecografía, mientras que el segundo método publicado más recientemente descrito por Renaudin, Gillis y Tarantal, conjuga la ecografía transrectal y abdominal (Renaudin, 2000).

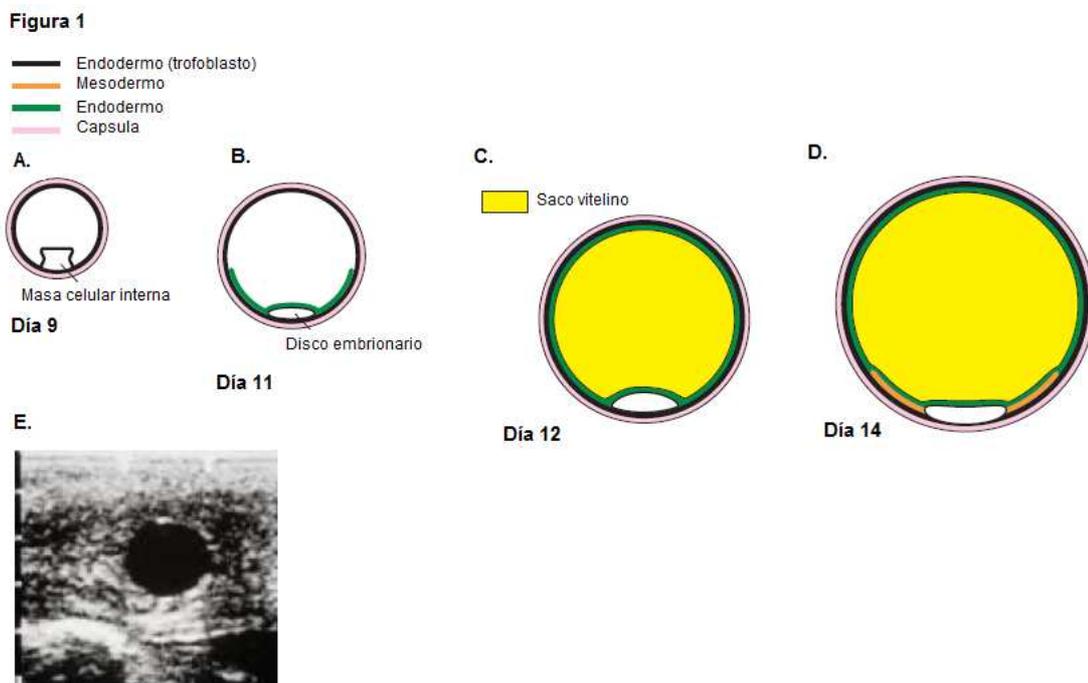
4.10.1. Características Ecográficas de la Vesícula Embrionaria.

El ultrasonido transrectal de 5 MHz se utiliza para detectar embriones de nueve y 11 días de gestación con un tamaño entre 3 y 5 mm. Solo alrededor del 5 y 10% de los embriones son detectables en el día nueve, mientras que al día 11 se detectan 98% de ellos (Ginther, 1998).

La imagen embrionaria y la relación entre los sacos placentarios (saco vitelino y saco alantoideo) es característica según el día de gestación. Entre los días nueve y 16 las vesículas embrionarias son esféricas y producen una imagen circunscrita negra

(anecoica) con dos manchas brillantes ecoicas sobre la superficie superior e inferior. Esta forma esférica se mantiene con un aumento progresivo del diámetro, 2-4 mm. por día entre los días nueve y 16. El área anecoica vista en la ecografía representa el fluido de un blastocito (día nueve y 11) o un saco vitelino (días 12-16) (Ginther, 1983a; Ginther, 1998).

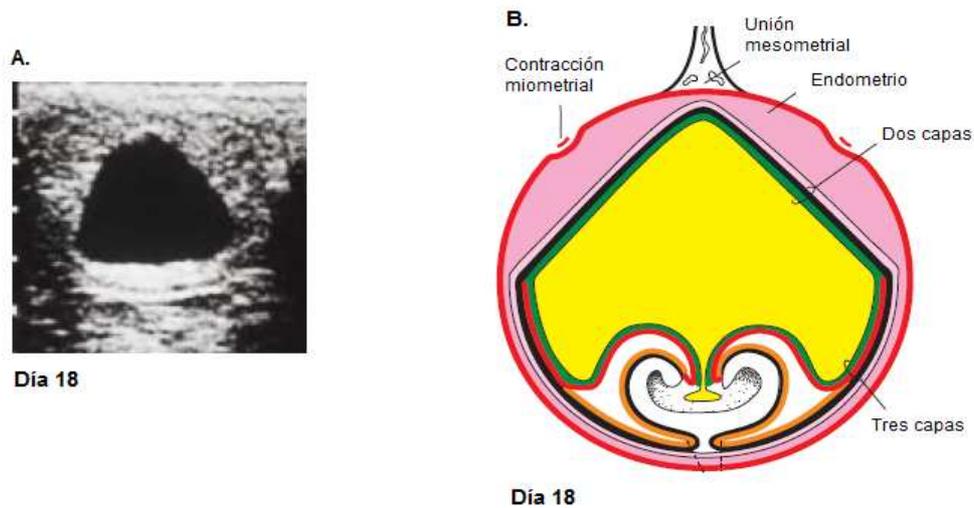
La figura 1 enfatiza mediante un esquema los diferentes estados de desarrollo del embrión (A, B, C, D) y su imagen ecográfica (E) característica entre los día nueve y 14 de gestación. Como se mencionó anteriormente, la imagen ecográfica mantiene su forma esférica con un aumento progresivo del diámetro durante tales días (Ginther, 1998).



Entre el día 15 y 16 la mayoría de las vesículas son esféricas pero algunas tienen una forma rugosa u ondulada en la periferia. Al día 17 cuando ocurre la fijación, la vesícula embrionaria pierde su forma esférica y la mayoría se tornan alargadas, pero algunas podrían ser circulares, rugosas o irregulares. Durante los días 15 y 17 la vesícula mantiene un crecimiento de 2 mm/día, después ésta mantiene su diámetro hasta el día 24, cuando nuevamente comienza a crecer. Entre el día 18 y 20 de gestación la forma es triangular o irregular, orientada con la base usualmente curvada hacia el aspecto ventral del cuerno uterino y el ápex hacia el aspecto dorsal del cuerno en el eje mesometrial. La vesícula embrionaria aún corresponde al saco vitelino (Ginther, 1983a; Ginther, 1998).

La figura 2 destaca la forma triangular característica de la vesícula embrionaria al día 18 de gestación que se obtiene en el examen por ultrasonografía (A), y un esquema que expone tal forma y la distribución de los diferentes componentes del embrión (B) (Ginther, 1998).

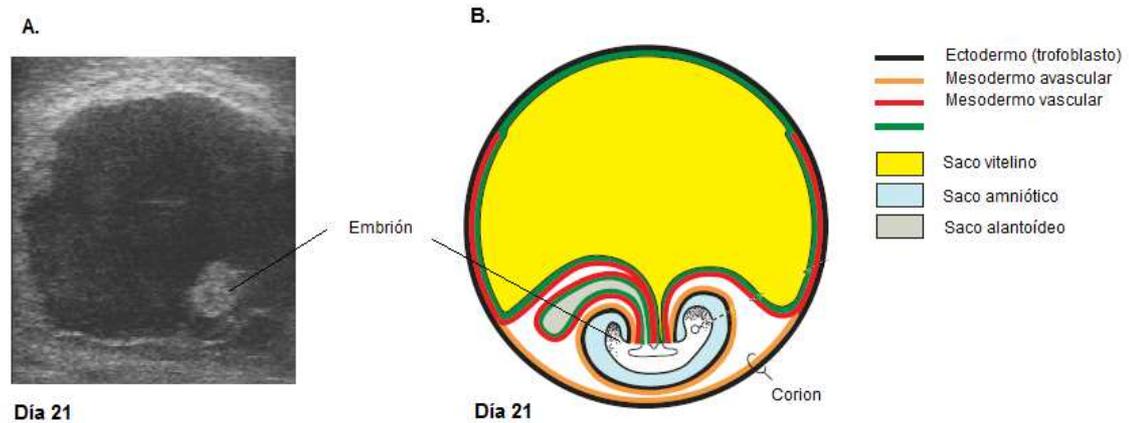
Figura 2



Al día 21 la forma predominante es triangular. El embrión es detectado por primera vez como un punto pequeño de 4 mm en la base ventral de la vesícula triangular, donde la porción con doble pared del saco vitelino (bilaminar) es localizada dorsal al embrión. Día 22, aparece el latido cardíaco del embrión (Ginther, 1983a, Meira *et al.*, 1998, Allen and Wilsher, 2009).

La figura 3 muestra la primera visualización del embrión en el examen ecográfico al día 21 (A) y un esquema que representa tal característica (B) (Ginther, 1998).

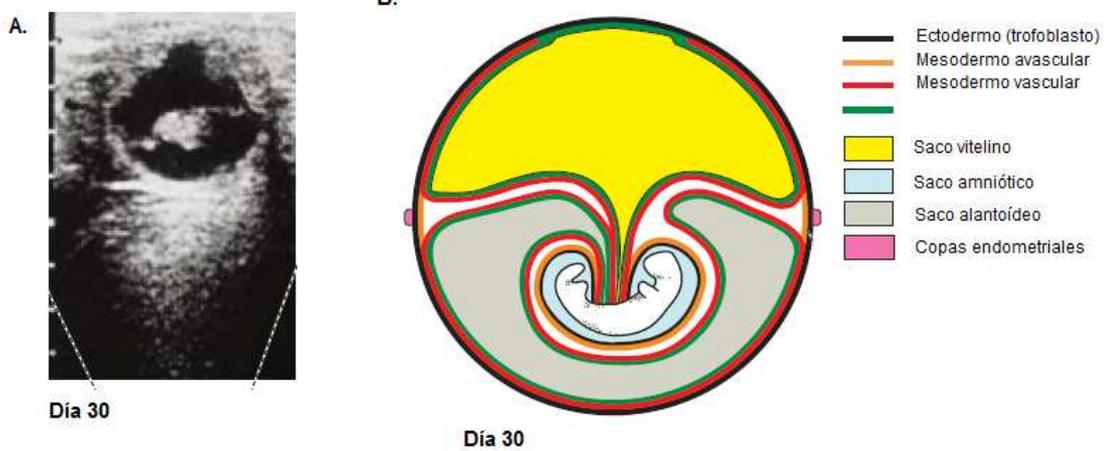
Figura 3



Día 24, el embrión ha migrado hacia dorsal desde la base de la vesícula debido a la aparición del saco alantóides (el área negra debajo del embrión). Día 27, el embrión se ha desplazado más hacia dorsal, y se observa 1/3 de saco alantóides ventral al embrión y 2/3 de saco vitelino en la porción dorsal de la vesícula. Día 30, el concepto es dividido en aproximadamente dos mitades iguales, 50% corresponde al saco vitelino y 50%, al saco alantóides, donde la imagen embrionaria está en ubicación central. La mayoría de las vesículas tienen forma irregular en esta etapa, pero algunas todavía son triangulares. Desde el día 30 de gestación hasta el día 48 la vesícula embrionaria vuelve a crecer aceleradamente unos 2 a 3 mm/día (Ginther, 1983a, Meira *et al.*, 1998, Allen y Wilsher, 2009).

En la figura 4 se contempla la relación entre el saco vitelino y el saco alantóideo al día 30 de gestación en una imagen ecográfica (A) y un esquema donde se visualiza tal relación (B). El saco vitelino se encuentra en situación ventral, el saco alantóides en dorsal y el embrión en posición central (Ginther, 1998).

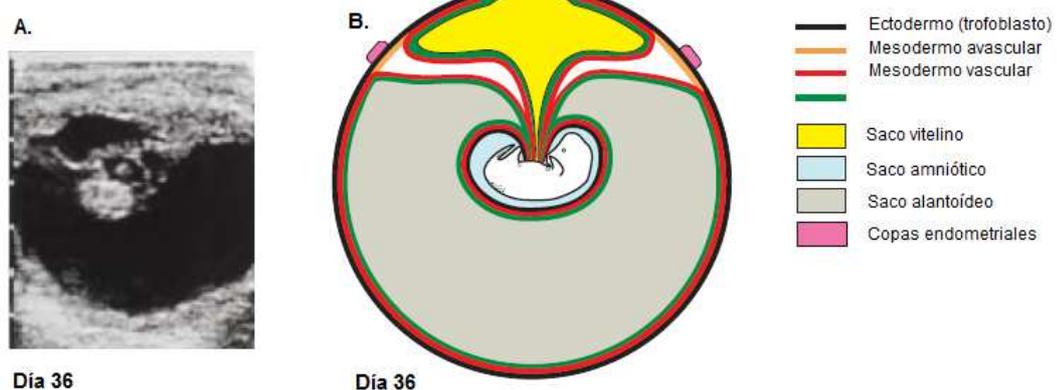
Figura 4



Día 33, 1/4 de la vesícula es saco vitelino, el alantoides se ha convertido en la placenta dominante. Día 36, el saco vitelino ha retrocedido y con frecuencia no es detectable, por eso todo el fluido placentario visible corresponde al saco alantoideo (Ginther, 1983a, Allen y Wilsher, 2009).

La figura 5 resalta el embrión a los 36 días de gestación en una imagen ecográfica (A) y su respectivo esquema (B), cuando el saco alantoideo domina casi completamente la vesícula embrionaria (Ginther, 1998).

Figura 5

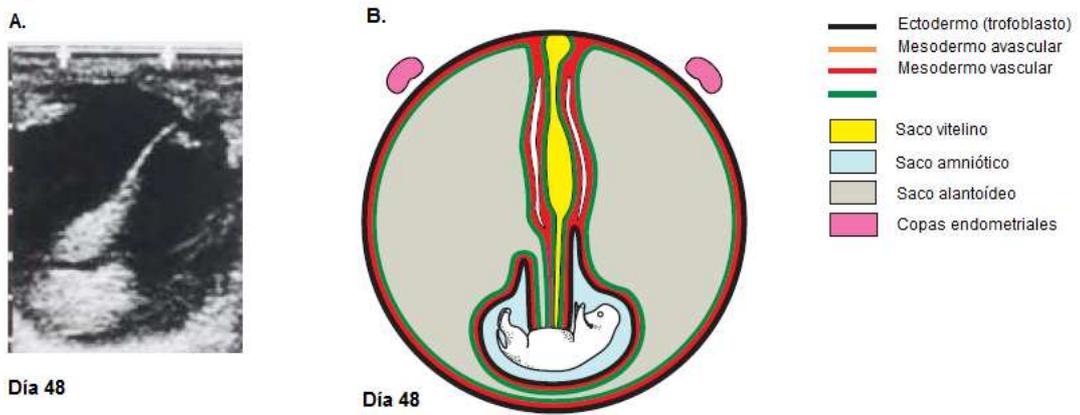


Día 39-48, las vesículas son de forma irregular pero el límite ventral usualmente es curvado. El cordón umbilical del feto llega a la pared externa del alantocorion en el sitio de

la porción doble laminada, donde se adjunta el cordón umbilical, relacionado espacialmente con la ubicación mesometrial del cuerno uterino, y posteriormente comenzar su descenso (Ginther, 1983a, Meira *et al.*, 1998, Allen y Wilsher, 2009).

La figura 6 destaca la imagen ecográfica (A) y un esquema (B) de la presencia del embrión vinculado al cordón umbilical al día 48 de gestación. El cordón umbilical conecta la pared externa del alantocorion con el embrión que a éstas alturas ha descendido nuevamente hacia ventral (Ginther, 1998).

Figura 6



5. Hipótesis.

El lado de la ovulación (izquierdo o derecho) está asociado con el lado de la fijación del embrión en el cuerno uterino (izquierdo o derecho).

6. Objetivo General.

Evaluar la asociación entre el ovario ovulado (izquierdo o derecho) con el cuerno gestante (izquierdo o derecho).

7. Objetivos Específicos.

- Determinar el grado de asociación entre el ovario que ovula y el cuerno gestante.
- Determinar el porcentaje de fijación de la vesícula embrionaria en cada cuerno uterino (izquierdo o derecho).
- Determinar el porcentaje de ovulación (izquierdo o derecho).
- Determinar el porcentaje de machos y hembras nacidos en relación a su ubicación en el respectivo cuerno gestante.

8. Material y Métodos.

8.1. Lugar del Estudio.

El estudio se realizó mediante el análisis retrospectivo con la base de datos y las fichas clínicas reproductivas de yeguas FSC provenientes de dos haras vecinos ubicados en la comuna de Calera de Tango, Región Metropolitana; durante la temporada reproductiva 2007-2008, entre los meses de Junio y Diciembre.

8.2. Animales.

Se incluyeron 100 fichas clínicas de yeguas, las cuales se encontraban en edad reproductiva entre los cinco y 17 años de edad, con pesos entre los 500 y 550 kg. Todas sometidas al mismo manejo alimentario, sanitario y de estabulación.

En cuanto a la alimentación, ésta se realizó en base a praderas, complementadas de manera individual con avena y heno de alfalfa. El manejo sanitario contó con vacunas y desparasitaciones al día, más un examen bacteriológico de útero, el cual se tomó antes de que comenzaran los manejos reproductivos.

En el estudio se incluyeron yeguas que se encontraban recién paridas en plena lactancia (72) y secas sin gestación de la temporada anterior (28), las cuales fueron consideradas como un sólo grupo.

8.3. Características Estudiadas.

Todas las hembras fueron sometidas al mismo manejo reproductivo durante toda la temporada. Durante los meses de Junio y Julio se utilizó luz artificial de manera individual para emular un aumento del fotoperíodo. Posteriormente se realizó recelaje diario, también de manera individual, para verificar la ciclicidad de cada yegua. Toda hembra en celo se controló con un examen clínico completo y un examen ginecológico vía palpación rectal, más una ultrasonografía del sistema reproductor.

Durante el celo se evaluó su duración, además de los ovarios y el útero. Los ovarios y el útero fueron examinados por palpación rectal y ultrasonografía diariamente durante toda la duración del celo. Por palpación rectal se determinó tamaño, turgencia del ovario y turgencia uterina, mientras que por ultrasonografía se evaluó tamaño folicular, ovario próximo a ovular y edema uterino, con el fin de predecir el momento de la ovulación.

La ecografía del aparato reproductor se llevó a cabo mediante ultrasonido transrectal, equipado con un transductor lineal de 5 MHz. marca marca Mindray, modelo 3300.

8.3.1. Ovulación.

El lado de ovulación se determinó por medio de ultrasonografía transrectal, por la presencia de un folículo dominante. Sólo se incluyeron en el estudio aquellas hembras que ovularon por el mismo ovario, ya sea uno o dos folículos. En el caso de las hembras que ovularon del ovario derecho e izquierdo fueron eliminadas del estudio.

Para facilitar el manejo de la monta y predecir el momento más exacto de la ovulación, toda yegua que presentó un folículo mayor a 3,5 cm, fluctuante a la palpación y un útero propio de celo, se presumió que estaba próxima a ovular y fue tratada con 2 ml de Chorulon® (Gonadotropina Corionica Humana, hCG) endovenoso, para luego realizar la monta, 24 hrs después.

Posterior a la monta, se realizó nuevamente un examen ginecológico por medio de ultrasonografía transrectal, entre las siguientes 24 y 48 hrs, evaluando los ovarios para verificar la ovulación por la presencia de un cuerpo lúteo en formación, en el lugar del folículo dominante. Si efectivamente el cuerpo lúteo estaba presente se confirmó aquel ovario como el ovulado.

8.3.2. Fijación.

De manera práctica se consideró que la fertilización ocurrió el día de la monta determinándola como el día 0 (cero). Así, se realizó una evaluación por ultrasonografía a los 12 días posteriores a la monta con el propósito de diagnosticar la gestación. La presencia de una vesícula embrionaria tuvo diagnóstico positivo, cuando su diámetro (12 mm) y forma (circunferencia de bordes nítidos) estuvieron de acuerdo con los días de gestación.

En el caso de una ovulación doble (del mismo ovario) y la presencia de mellizos, se eliminó manualmente una vesícula embrionaria antes de la fijación (entre los días 13 y 16) para que continuara la gestación de un solo embrión. Cuando efectivamente el procedimiento dio resultado, manteniendo la gestación de un solo embrión, se incluyó este animal en el estudio.

Posteriormente, entre los días 15 y 20 de gestación se evaluó por ultrasonografía la fijación en el cuerno gestante, definiendo cuál es el cuerno uterino grávido (izquierdo o derecho). Entre los días 22 y 25 se realizó nuevamente una ecografía para verificar la presencia del embrión, el latido cardiaco y verificar reiteradamente el cuerno grávido.

8.3.3. Sexo.

El sexo de la cría se determinó al momento del nacimiento por inspección visual de sus genitales externos. A las crías que nacieron muertas se les determinó el sexo e igualmente se incluyeron en el estudio.

En el caso de una reabsorción embrionaria o un aborto se eliminó al animal del estudio.

8.4. Tamaño de la Muestra.

El tamaño muestral calculado fue de 100 fichas clínicas, el cual se determinó mediante el programa computacional Epidat 3.1, software de dominio público, utilizando la estimación de una proporción poblacional (Hervada et al, 1994), con un nivel de confianza del 95%, precisión del 10% y potencia de al menos 80%.

8.5. Análisis Estadístico.

Con la información obtenida de cada ficha clínica se creó una base de datos en Excel, la cual fue ingresada a Epidat 3.1, de análisis epidemiológico de datos tabulados, para evaluar la asociación entre las variables ovulación y fijación (Hervada *et al.*, 1994).

Para estimar la concordancia entre el ovario y cuerno uterino del mismo lado, se utilizó la Prueba Kappa, en cambio para estimar la significancia de los cambios de lado, se recurrió a la Prueba de Mc Nemar, utilizando tablas de 2X2. (Hervada *et al.*, 1994; Waine, 2002).

Para determinar si el porcentaje de cada una de las variables: lado de ovulación (izquierda o derecha), lado de fijación del embrión en el cuerno uterino (izquierdo o derecho) y sexo de la cría (macho o hembra), es significativo se utilizó la Prueba de Hipótesis para dos Proporciones.

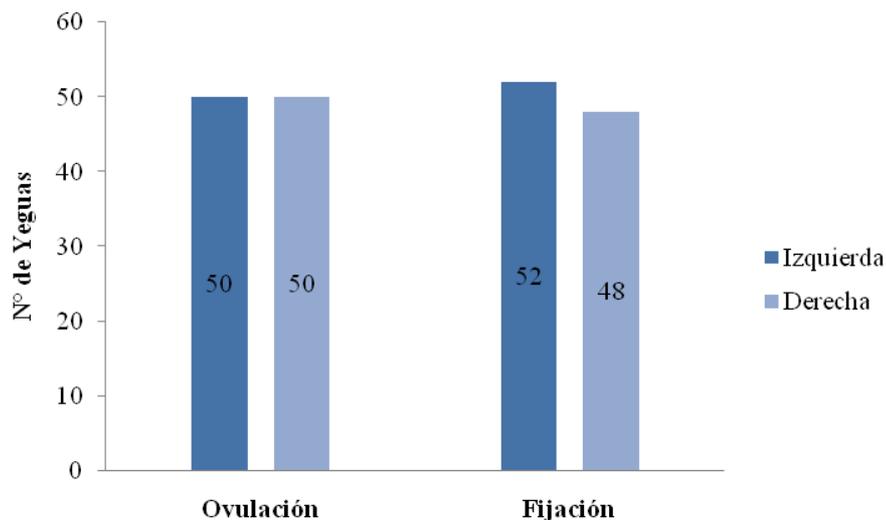
Para evaluar la asociación entre el sexo de la cría y su respectivo cuerno uterino gestante se utilizó la Prueba de Ji- cuadrado de Independencia, aplicando el factor de corrección por tratarse de variables discretas y se construyó una tabla de contingencia de 2X2.

9. Resultados y Discusión.

9.1. Porcentaje de Ovulación y Fijación.

Al analizar la información contenida en las 100 fichas clínicas reproductivas correspondientes a las 100 hembras en estudio, se pudo observar en relación al lado de ovulación, que 50 yeguas correspondieron al ovario izquierdo, mientras que el 50% restante lo realizó por el ovario derecho (gráfico 3). Lo que se explicaría porque en todas estas yeguas, se encontraban desde un punto de vista fisiológico ambos ovarios igualmente activos, teniendo la misma posibilidad de ovular en cada ciclo estral.

Gráfico 3. Distribución del lado de ovulación y el lado de implantación del embrión en el cuerno uterino en yeguas FSC.



Al comparar nuestros resultados con la literatura existente de otros autores, pudimos observar que sólo algunos casos son coincidentes. Así, Ginther (1983b) quien evaluó a yeguas en diferente estado fisiológico, constató que no existen diferencias entre el lado de la ovulación en las hembras en lactancia (n= 633) y secas (n= 281), mientras que las yeguas vírgenes (n= 94) sí tenían una tendencia significativa ($p < 0.05$) a ovular por el ovario izquierdo (n= 585), lo cual se debería según el autor al diferente estado reproductivo de los animales, donde las hembras secas y en lactancia que ya han parido a lo menos una cría, ambos ovarios se encuentran activos, mientras que las yeguas

vírgenes que aún no ingresan a la reproducción tienen la tendencia de la ovulación izquierda. Los resultados de las yeguas en lactancia y secas coinciden con nuestras observaciones, donde no se obtuvieron diferencias significativas en relación al ovario ovulado, pero cabe recordar que en nuestro trabajo no se realizó la clasificación entre yeguas en lactancia y secas, sino que fueron consideradas como un solo grupo.

Sharma y colaboradores (2009) también obtuvieron resultados similares al evaluar a 195 hembras durante 7 años, para obtener un tamaño muestral de 746 ejemplares, donde la incidencia de ovulaciones del ovario izquierdo fue significativamente mayor ($p < 0.005$), en el cual 52,68% ovularon por el ovario izquierdo y 47,32% lo realizó por el ovario derecho. Este autor señala que posiblemente se debería a que el ovario izquierdo posee más óvulos.

Vázquez-Dueñas y colaboradores (2004) evaluaron a 206 madres reportando que el 51% ovuló por el ovario izquierdo, mientras que el 43,9% lo realizó por el derecho, información corroborada por McDonald (1991), quien indica que la yegua es ovuladora izquierda en un 55 a 65%.

Nuestro estudio coincide con Morel y O'Sullivan (2001) quienes estudiaron las ovulaciones dobles y simples, describiendo que no había diferencias estadísticas en cuanto al lado derecho e izquierdo, señalando que ambos ovarios están igualmente activos para ovulaciones simples y dobles, pero esta información no es absolutamente comparable a la obtenida en nuestro trabajo ya que se debe recordar que nosotros eliminamos aquellas hembras que ovularon de ovarios diferentes.

Utilizando las mismas fichas clínicas empleadas para estudiar el lado de ovulación se procedió a determinar el lado de fijación del embrión, en el cual 52 yeguas fijaron sus embriones en el cuerno uterino izquierdo y 48 lo realizaron en el cuerno derecho (tabla 1). Este resultado no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$), por lo cual podemos inferir que la ocurrencia de lo dicho es al azar. Esto se explicaría por la fase de movilidad del embrión equino, quien recorre el útero libremente teniendo acceso a ambos cuernos uterinos (Leith y Ginther, 1985).

Tabla 1. Distribución de la ovulación y la implantación del embrión en el cuerno uterino en yeguas FSC.

	Izquierda	Derecha	Total
Ovulación	50	50	100
Fijación	52	48	100

En cuanto a la fijación del embrión, los resultados obtenidos no concuerdan con la mayoría de la información presente en la literatura. Por ejemplo, Ginther (1983b) utilizando las mismas yeguas donde evaluó la ovulación, describió que los embriones de las hembras vírgenes y secas se implantaron mayormente en el cuerno uterino derecho ($p < 0.05$), en contraste a las hembras en lactancia, donde no había diferencias significativas entre los embriones implantados en el cuerno derecho o izquierdo. Según este autor esto se debería a que las hembras lactantes generalmente fijan al embrión en el cuerno uterino no grávido de la preñez anterior, mientras que las yeguas vírgenes y secas tienen ambos cuernos uterinos en similares condiciones, indicando que el estado reproductivo y las condiciones anatómicas del útero si influye en la fijación del embrión.

Los resultados señalados por Sharma y colaboradores (2009) utilizando los mismos animales donde evaluó la ovulación, fueron los mismos señalados por Ginther (1983b) en cuanto a las yeguas vírgenes, secas y en lactancia, pero además señaló que la fijación en yeguas ocurre significativamente ($p < 0.01$) más en el cuerno uterino derecho que en el izquierdo (53, 35% vs 46.65% respectivamente). Esta predilección por el cuerno derecho la atribuye a la anatomía dada por el ángulo de flexión entre el cuerno y cuerpo, y a la fisiología en relación a la contracción y tono uterino.

Se debe considerar que la mayoría de los animales utilizados en nuestro estudio se encontraban en plena lactancia, y en ese caso los resultados concuerdan con los autores anteriormente señalados quienes también utilizaron animales en tal estado reproductivo.

9.2. Asociación entre el lado de Ovulación y Fijación.

Los resultados de la asociación entre el lado de ovulación y el lado de fijación se muestran en la tabla 2, donde 27 yeguas ovularon y fijaron sus embriones por el lado derecho, mientras que 29 yeguas ovularon y se implantaron por el lado izquierdo. Esto hace un total de 56 animales que mantuvieron igual lado de ovulación y fijación del embrión. Al estudiar la significancia de estas dos variables anteriormente señaladas, no se observó concordancia significativa entre el ovario y cuerno uterino del mismo lado ($p > 0.05$), de lo cual se podría inferir que el lado de ovulación es un fenómeno independiente al lado de fijación, por lo tanto dicha situación ocurriría al azar.

En cuanto a los resultados de la asociación entre la ovulación y fijación del embrión de diferentes lados arrojó los siguientes resultados: 21 yeguas ovularon por el ovario izquierdo y se fijaron en el cuerno uterino derecho, mientras que 23 equinos ovularon por el lado derecho y sus embriones se fijaron en el cuerno izquierdo. Estos resultados demuestran que 44 animales cambiaron de lado entre la ovulación y fijación. No existe significancia estadística entre los cambios de lado ($p > 0.05$), por lo cual podemos asumir que dicho evento es de carácter aleatorio, corroborando nuevamente que el lado de ovulación es un fenómeno independiente al lado de fijación del embrión en el cuerno uterino. De éstos resultados podemos inferir que no es conveniente seleccionar un lado de ovulación para efectuar la monta, ya que el embrión se puede fijar al azar en cualquiera de los cuernos.

Tabla 2. Distribución del lado de ovulación y la relación con su respectivo cuerno uterino gestante en yeguas FSC.

		Ovulación	
		Izquierda	Derecha
Fijación	Izquierda	29	23
	Derecha	21	27

Estos resultados concuerdan con diferentes autores donde cada uno de ellos afirma que el lado de ovulación no está asociado con el lado de implantación (Butterfield y Matthews, 1987; Sharma et al., 2009). En cambio en el estudio de Ginther (1983b), se afirma que sólo en las yeguas lactantes, el lado de ovulación no está asociado al lado de implantación, resultados que coinciden con nuestro estudio, recordando que nosotros utilizamos a la mayoría de nuestros animales en tal estado reproductivo. Planteando la idea que el lado de entrada del embrión a los cuernos uterinos no determina el lado de fijación.

Existen otros estudios donde relacionan el cuerno uterino gestante con el cuerno uterino de la gestación anterior. Morel y colaboradores (2009) monitorearon a 1366 yeguas durante dos preñeces consecutivas, constatando que el 79,2% se presentó en el cuerno uterino contra lateral, mientras que el 20,79% restante se situó en el mismo cuerno uterino. Del mismo modo que Allen y Newcombe (1981) quienes reportaron que el 82,4% de las gestaciones consecutivas ocurren en el cuerno uterino contra lateral, pero utilizando una muestra mucho menor de 153 animales. Estos resultados los atribuyen a que el cuerno uterino no grávido proporciona las condiciones óptimas para el embrión. En yeguas normales, el cuerno uterino gestante, recién termina su involución endometrial a los 14 días y su involución anatómica (tamaño) a los 30 - 32 días. Si pensamos en utilizar el primer celo post parto que ocurre a la semana de la parición, el embrión estaría llegando al útero al día 14 donde aún el cuerno uterino de la gestación anterior no ha completado su involución. Se debe considerar que en nuestro estudio no se observó una predilección del proceso de fijación por algún cuerno en particular, sin embargo, no se puede descartar lo planteado en los estudios mencionados, ya que en nuestro trabajo no se evaluó el estado de gravidez que presentaba el cuerno en el periodo reproductivo anterior, considerando que la mayoría de nuestros animales se encontraban en lactancia.

En el mismo estudio de Morel y colaboradores (2009) se determinó que aquellas gestaciones consecutivas que ocurrían en el mismo cuerno uterino grávido, fueron significativamente ($p < 0.001$) más probables de fracasar en comparación a aquellas gestaciones ocurridas en el cuerno uterino contralateral. A raíz de esta observación cuando se sabe que una yegua ha sufrido lesiones o daños en el útero que dificultan el apoyo de la preñez, se podría considerar tener partos en años alternos, lo que tendrá

consecuencias económicas con pérdida de ingresos, pero puede ser beneficioso para la salud de la yegua y su bienestar.

De acuerdo a las observaciones se podría plantear que sería conveniente interrumpir la preñez en el caso de ocurrir en el mismo cuerno uterino de la gestación anterior, o bien eliminar aquel embrión que se gesta en un cuerno uterino con muchas alteraciones degenerativas, a fin de alcanzar a preñar nuevamente a la hembra durante la temporada reproductiva.

9.3. Relación entre Fijación y Sexo del Embrión.

La distribución de crías masculinas y femeninas observadas en relación al cuerno uterino grávido (derecho e izquierdo) se resume en la tabla 3 y gráfico 4. De un total de 100 yeguas gestantes, 52 % ocurrieron en el cuerno uterino izquierdo, mientras que 48% ocurrieron en el cuerno uterino derecho, resultados discutidos anteriormente. En cuanto a la proporción entre los sexos, 49 resultaron hembras, mientras que 51 ejemplares fueron machos. Esta proporción, no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$), sino que puede inferirse que dicho resultado es aleatorio. Esto podría explicarse por que existe una misma proporción de espermatozoides X e Y en cada eyaculado, manteniéndose tal proporción hasta el momento de la fecundación (Palma, 2001).

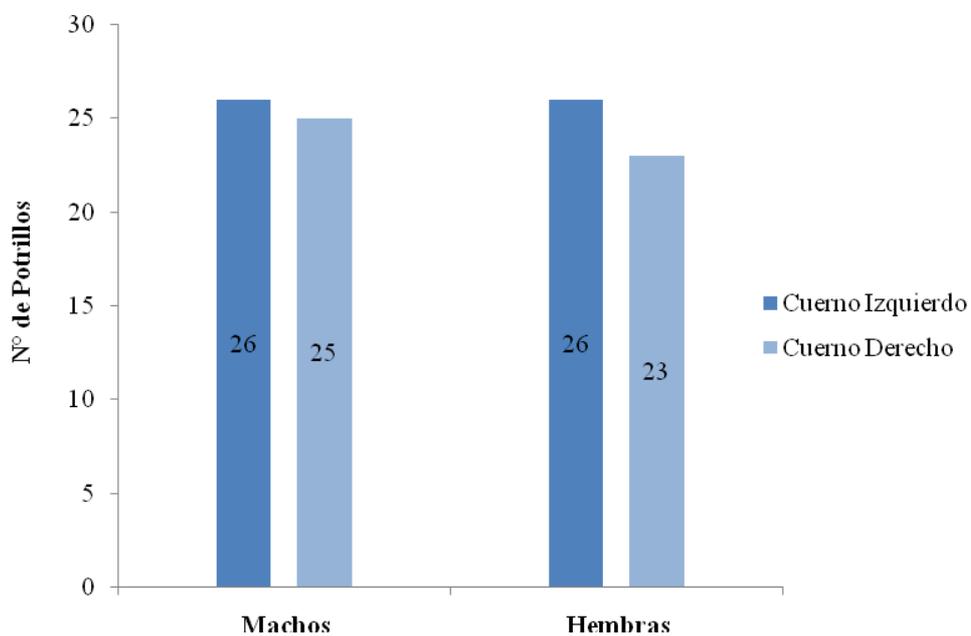
Tabla 3. Distribución de potrillos hembras o machos y su relación con su respectivo cuerno uterino gestante en yeguas FSC.

		Fijación	
	Total	Izquierda	Derecha
N° Preñez	100	52	48
N° Machos	51	26	25
N° Hembras	49	26	23

El gráfico 4 y la tabla 3 describen la distribución de los diferentes sexos en relación a su respectivo cuerno uterino, mostrando que 26 machos se implantaron en el cuerno izquierdo del útero, mientras que 25 lo realizaron en el cuerno izquierdo. En el caso de las

hembras, 26 de ellas también se implantaron en el cuerno izquierdo, y sólo 23 lo realizaron en el cuerno derecho. Estas diferencias no fueron significativas ($p > 0.05$) y podrían explicarse porque el cuerno de fijación no ejercería ninguna presión de selección en el sexo del embrión, lo que corroboraría que la fijación sería un fenómeno independiente al sexo de éste.

Gráfico 4. Distribución de potrillos hembras o machos FSC y su relación con su respectivo cuerno uterino gestante.



En los equinos no existen trabajos donde se relacione el sexo del embrión con otra variable reproductiva. Sin embargo, en el ganado bovino, especialmente en lechería, sí existen estudios los que podrían extrapolarse a la especie equina. A pesar que se describe que la vaca ovula más frecuentemente por el ovario derecho, sus embriones se implantan usualmente en el cuerno uterino izquierdo y casi no existe movilidad de la vesícula embrionaria (Giraldo *et al.*, 2009).

Giraldo y sus colaboradores (2009) demostraron que en el ganado bovino, una proporción significativamente mayor de los fetos masculinos se gestaba en el cuerno uterino derecho y una mayor proporción de fetos femeninos en el cuerno izquierdo. Sin embargo, no está claro si el ovario de origen o las presiones de selección aplicadas por el útero influyen en la determinación del sexo de la cría.

Existen otros estudios en ganado bovino lechero que relacionan el sexo de la cría con el momento de la inseminación artificial o monta. En estas publicaciones se evalúa los diferentes intervalos de inseminación o monta en relación a la ovulación, para ver si tienen una influencia sobre el sexo de los embriones. Hay gran controversia entre los autores. Algunos afirman que no hay diferencias significativas entre diferentes intervalos de la ovulación e inseminación sobre la proporción de sexos de los embriones (Rorie *et al.*, 1999; Roelofs *et al.*, 2006). En cambio Martínez y colaboradores (2004) encontraron que la inseminación temprana produjo más terneros hembras y las inseminaciones tardías más terneros machos, mientras que Pursley y colaboradores (1998) encontró más terneros hembras al inicio y al final de las inseminaciones. Actualmente no se sabe la fisiología de la proporción de sexos en relación a diferentes tiempos de inseminación, pero es posible que exista una selección preferencial del espermatozoide que lleva el cromosoma X o Y durante la fecundación. Estas publicaciones no son extrapolables en su totalidad a nuestro trabajo, ya que en nuestro estudio se indujo la ovulación para efectuar la monta a tiempo fijo, donde se pudo apreciar que no existiría una selección de los espermatozoides en ese tiempo.

En relación a los resultados obtenidos en este trabajo, aparentemente el sexo del embrión no presentaría una tendencia a implantarse en ninguno de los cuernos uterinos, dejando el fenómeno al azar y el lado de ovulación tampoco influiría en el sexo del embrión. El sexo del embrión es determinado por el cromosoma X o Y del espermatozoide y al parecer, tanto el lado de ovulación como el lado de fijación en el cuerno uterino no ejercerían ningún tipo de selección sobre el sexo del embrión.

A la luz de nuestras observaciones no se recomendaría seleccionar un lado de implantación para obtener el sexo deseado, ya que el sexo femenino o masculino en relación al lado de implantación es un fenómeno aleatorio.

10. Conclusiones.

- La ovulación (izquierda o derecha) es un suceso aleatorio.
- El lado de fijación del embrión, ya sea en el cuerno izquierdo o derecho, es un fenómeno que ocurre al azar.
- El lado de ovulación no está asociado con el lado de fijación del embrión en el cuerno uterino.
- La distribución del sexo de la cría entre machos y hembras es aleatoria.
- La proporción entre las crías masculinas y femeninas que se gestan en cada cuerno no tienen asociación.
- En consecuencia, no podemos intervenir manejando el lado de ovulación, para que el embrión se implante en el cuerno uterino que deseamos como tampoco podemos inferir en el sexo de la cría.

11. Bibliografía.

ALBIHN, A; WAELCHLI, R; SAMPER, J; ORIOL, J; CROV, B; BETTERIDGE, K. 2003. Production of capsular material by equine trophoblast transplanted into imm.unodeficient mice. *Reproduction* 125: 855–863.

ALLEN, W; NEWCOMBE, J. 1981. Relationship between early pregnancy site in consecutive gestations in mares. *Equine Vet J* 13: 51–52.

ALLEN, W; MATHIAS,S; LENNARD, S; GREENWOOD, R. 1995. Serial measurement of peripheral oestrogen and progesterone concentrations in oestrus mares to determine optimum mating time and diagnose ovulation. *Equine Vet* 27: 460-464.

ALLEN, W. 2000. The physiology of early pregnancy in the mare. [en línea]. **ln:** Proceeding of the annual convention of the AAEP. Vol. 46. <<http://www.ivis.org> > [consulta: 10-03-2010].

ALLEN, W. 2001. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reproduction* 121: 513–527.

ALLEN, W; WILSHER, S. 2009. A Review of Implantation and Early Placentation in the Mare. *Placenta* 30: 1005-1015.

ARAR, S; CHAN, K; QUINN, B; WAELCHI, R; HAYES, M; BETTERIDGED, K; MONTEIROA, M. 2007. Desialylation of core type 1 O-glycan in the equine embryonic capsule coincides with imm.obilization of the conceptus in the uterus. *Carbohydrates* 342: 1110–1115.

BATTUT, I; COLCHEN, S; FIENI, F; TAINTURIER, D; BRUYAS, J. 1997. Success rate when attempting to non surgically collect equine embryos att 144, 156 y 168 hous after ovulation. *Equine Vet J* 25: 60-62.

BERGFELT, D; MANN, B; SCHWARTZ, N; GINTHER, O. 1991. Circulating concentrations of immunoreactive inhibin and FSH during the estrous cycle of mares. *Equine Vet J* 11: 319–322.

BETTERIDGE, K; EAGLESOME, M; MITCHELL, D; FLOOD, P; BERIAULT, R. 1982. Development of horse embryos up to twenty-two days after ovulation: observations on fresh specimens. *J Anat* 135:191–209.

BETTERIDGE, K. 1989. The structure and function of the equine capsule in relation to embryo manipulation and transfer. *Equine Vet J* 8: 92–100.

BUTTERFIELD, R; MATTHEWS, R. 1987. Ovulation and the movement of the conceptus in the first 35 days of pregnancy in thoroughbred mares. *J Reprod Fertil* 27: 447-452.

CHU, J; SHARON, F; ORIOL, J; BETTERIDGE, K; CLEAVER B, SHARP, D. 1997. Biochemical changes in the equine capsule following prostaglyin-induced pregnancy failure. *Mol Reprod Devel.* 46: 286-295.

CUERVA-ARANGO, J; CLARK, A. 2010. The first ovulation of the breeding season in the mare: The effect of progesterone priming on pregnancy rate and breeding management (hCG response rate and number of services per cycle and mare). *Anim Reprod Sci* 118: 265-269.

DONADEU, F; GINTHER, O. 2003. Suppression of circulating concentrations of FSH and LH by inhibin and estradiol during the initiation of follicle deviation in mares. *Theriogenology* 60: 1423-1434.

ENDERS, A; LIU, I. 1991. Lodgement of the equine blastocyst in the uterus from fixation through endometrial cup formation. *J Reprod Fert Suppl* 44: 427–438.

ESPINOZA-VILLAVICENCIO, J; ORTEGA, R; PALACIOS, A; VALENCIA, J; ARECHIGA, C. 2007. Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos: una revisión. *Interciencia* 32: 93-99.

FERREIRA- DIAS, G; CLAUDINO, F; CARVALHO, H; AGRÍCOLA, R; ALPOIM-MOREIRA, J; ROBALO, J. 2005. Seasonal reproduction in the mare: possible role of plasma leptin, body weight and imm.une status. *Domest Anim Endocrin* 29: 203-213.

FITZGERALD, B; MCMANUS, C. 2000. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. *Biol. Reprod.* 63: 335-340.

FRAZER, G. 2005. Alteraciones del aparato reproductor. **In:** *Medicina interna equina.* Reed, S; Bayly, W; Sellon, D.2ª ed. Editorial Interamericana, McGraw- Hill. Buenos Aires, Argentina. Vol. 2.

FREEMAN, D; WOODS, G; VANDERWALL, D; WEBER, J. 1992. Embryo-initiated oviductal transport in mares. *Reproduction* 95: 535-538.

GASTAL, M; GATAL, E; KOT, K; GINTHER, O. 1996. Factors related to the time of fixation of the conceptus in mares. *Theriogenology* 46: 1171-1180.

GINTHER, O. 1983a. Fixation and orientation of the early equine conceptus. *Theriogenology* 19: 613-623.

GINTHER, O. 1983b. Mobility of the early equine conceptus. *Theriogenology* 19: 603-611.

GINTHER, O; BERGFELT, D. 1992. Ultrasonic characterization of follicular waves in mares without maintaining identity of individual follicles. *J Equine Vet Sci* 12: 349-54.

GINTHER, O. 1993. *Reproductive Biology of the mare: Basic and applied aspects.* 2º ed. Cross Plains Equiservices. Wisconsin, Estados Unidos.

GINTHER, O; BERGFELT, D. 1993. Growth of small follicles and concentrations of FSH during the equine oestrous cycle. *J Reprod Fertil* 99: 105-111.

GINTHER, O. 1998. Equine pregnancy: physical interaction between the uterus and conceptus [en línea]. **In:** *Proceeding of the annual convention of the AAEP.* Vol. 44. <<http://www.ivis.org>> [consulta: 10-03-2009].

GINTHER, O; SILVA, L. 2006. Incidence and nature of disorientation of the embryo proper and spontaneous correction in mares. *J Equine Vet Sci* 26: 249-256.

GINTHER, O; UTT, M; BERGFELT, D; BEG, M. 2006. Controlling interrelationships of progesterone/LH and estradiol/LH in mares. *Anim Reprod Sci* 95: 144-150.

GINTHER, O; GASTAL, E; GASTAL M; BEG, M. 2007. Effect of prostaglandin F₂ α on ovarian, adrenal, pituitary hormones and on luteal blood flow in mares. *Domes Anim Endocrin* 32: 315-328.

GINTHER, O; RODRIGUES, B; FERREIRA, J; ARAUJO, R; BEG, M. 2008. Characterization of pulses of 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂ α (PGFM) and relationships between PGFM pulses and luteal blood flow before, during and after luteolysis in mares. *Reprod Fertil Dev* 20: 684-693.

GINTHER, O; GASTAL, E; GASTAL, M; DUARTE, L; BEG, M. 2009. Follicle suppression of circulating follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone before versus after emergence of the ovulatory wave in mares. *Theriogenology* 72: 445-452.

GINTHER, O. 2009. A 40-year odyssey into the mysteries of equine luteolysis. *Theriogenology* 72: 591-598.

GIRALDO, A; HYLAN, D; BONDIOLI, K; GODKE, R. 2009. Distribution of sexes within the left and right uterine horns of cattle. *Theriogenology* 73: 496-500.

GOMEZ-CUETARA, C; MATEOS, E. 1996. Control de la reproducción en ganado equino. In: Nuevas técnicas de reproducción asistidas aplicadas a la producción animal. Garde, J; Gallego, L. Editorial Universidad de Castilla- La Mancha.

GRIFFIN, P; CARNEVALE, E; GINTHER, O. 1992. Effects of the embryo on uterine morphology and function in mares. *Anim Reprod Sci* 31: 311-329.

GRONDAHL, C. 1998. Fertilization in the horse – A review of in vivo and in vitro aspects. *Reprod Dom Anim* 33: 133-137.

HERVADA, X; SANTIAGO, M; VÁZQUEZ, E; CASTILLO, C; LOYOLA, E; SILVA, L. 1994. Muestreo, Cálculo de tamaño muestral. **In:** Epidat 3.1: Análisis epidemiológico de datos tabulados.

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

KASTELIC, J; ADAMS, G; GINTHER, O. 1987. Role of progesterone in motility, fixation, orientation and survival of the equine embryonic vesicle. *Theriogenology* 27: 655-663.

LEBLANC. 1999. Reproductive system, the mare: Pathophysiology and principles of therapy. **In:** Colahan, P; Maythrew, I; Merritt, A; Moore, J; E.P (Ed.). *Equine Medicine and Surgery*. 5ª ed. American Veterinary Publications. California, United State.

LEBLANC. 2008. When to refer an infertile mare to a theriogenologist. *Theriogenology* 70: 421-429.

LEITH, G; GINTHER, O. 1985. Mobility of the conceptus and uterine contraction in the mare. *Theriogenology* 24: 701-711.

MARTINEZ, F; KAABI, M; MARTINEZ- PASTOR, F; ALVAREZ, M; ANEL, E; BOIXO, J; DE PAZ, P; ANEL, L. 2004. Effect of the interval between estrus onset and artificial insemination on sex ratio and fertility in cattle: a field study. *Theriogenology* 62: 1264-1270.

MCCUE, P; NICKERSON, K; SQUIERES, E; FARQUHAR, V; NETT, T. 2001. Effect of Altrenogest on Luteinizing Hormone Concentrations in Mares During the Transition Period [en línea]. **In:** Proceedings of the Annual Convention of the AAEP Vol. 47. <<http://www.ivis.org>> [consulta: 29-12-2009].

MCDONALD, L. 1991. Patrones reproductivos de los caballos. **In:** *Endocrinología veterinaria y reproducción*. 4ª ed. Editorial Interamericana, McGraw- Hill. Buenos Aires, Argentina. pp 405-408.

MCKINNON; A. 2009. Hormonal control of equine reproduction. [en línea]. **In:** Proceedings of the AAEP annual resort symposium. Vail, Colorado, USA. <<http://www.ivis.org>> [consulta: 29-12-2009].

MEIRA, C; FERREIRA, J; PAPA, F; HENRY, M. 1998. Ultrasonographic evaluation of the conceptus from days 10 to 60 of pregnancy in jennies. *Theriogenology* 49: 1475-1482.

MOREL, D; O´SULLIVAN, M. 2001. Ovulation rate and distribution in the thoroughbred mare, as determined by ultrasonic scanning: the effect of age. *Anim Reprod Sci* 66: 59-70.

MOREL, D. 2003. Endocrine control of reproduction in the mare. **In:** Equine reproductive physiology. .2ª ed. Editorial CAB International. Cambridge, USA.

MOREL, D; NEWCOMBE, J; SWINDLEHURST, J. 2005. The effect of age on multiple ovulation rates, multiple pregnancy rates and embryonic vesicle diameter in the mare. *Theriogenology* 63: 2482-2493.

MOREL, D; NEWCOMBE, J; HINCHLIFFE, J. 2009. The relationship between consecutive pregnancies in Thoroughbred mares. Does the location of one pregnancy affect the location of the next, is this affected by mare age and foal heat to conception interval or related to pregnancy success. *Theriogenology* 71: 1072-1078.

MORRESEY, P. 2004. How to perform a field assessment of the equine placenta. [en línea]. **In** 50 th Annual convention of the american association of equine practitioners, Denver, CO, USA, (Ed) <<http://www.ivis.org>> [consulta: 9-03-2010].

MUÑOZ, B. 1995. Importancia del uso sistemático de la ecografía en el manejo reproductivo de la yegua fina sangre de carrera. *Avances en Medicina Veterinaria*, Vol.10(1).

NEWCOMBE, J. 2002. Field observations on the use of progesterone releasing intravaginal device to induce estrus and ovulation in seasonally anestrus mares. *J. Equine Vet. Sci.* 22: 378-382.

ORIO, J; BETTERIDGE, K; CLARKE, A; SHAROM, F. 1993. Mucin-like glycoproteins in the equine embryonic capsule. *Mol Reprod Dev.* 34: 255-265.

PALMA, G. 2001. Transferencia de embriones y biotecnología asociada a la especie equina. [en línea]. **In:** Biotecnología de la reproducción. < books.google.cl> [consulta: 20-11-2009].

PURSLEY, J; SILCOX, R; WILTBANK, M. 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81: 2139-2144.

RAESIDE, J; CHRISTIE, H; RENAUD, R; WALELCHLI, R; BETTERIDGE, K. 2004. Estrogen metabolism in the equine conceptus and endometrium during early pregnancy in relation to estrogen concentrations in yolk-sac fluid. *Biol Reprod* 71: 1121-1127.

RAESIDE, J; CHRISTIE, H; RENAUD, R; WALELCHLI, R; BETTERIDGE, K. 2009. Estrogen metabolism by the equine embryo proper during the fourth week of pregnancy. *Reproduction* 138: 953-960.

RAMIREZ, Y. 2001. Sincronización del ciclo estral de la yegua fina sangre de carrera mediante la utilización de un dispositivo intravaginal de progesterona y estradiol. Memoria de Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.

RANTANEN, N; MCKINNON, A. 1998. Reproductive ultrasonography mare. [en línea]. **In:** Equine diagnostic ultrasonography. < books.google.cl> [consulta: 20-3-2010].

RENAUDIN, C. 2000. Determinación del sexo fetal en equinos mediante ultrasonografía. [en línea]. **In:** Recent Advances in Equine Reproduction, New York, USA. B. A. Ball (Ed.) <<http://www.ivis.org>> [consulta: 9-09-2009].

ROELOFS, J; BOUWMAN, E; PEDERSEN, H; RIESTRA RASMUSSEN, Z; SOEDE, N; THOMSEM, P; KEMP, B. 2006. Effect of time of artificial insemination on embryo sex ratio in dairy cattle. *Anim Reprod Sci* 93: 366-371.

RORIE, R; LESTER, T; LINDSEY, B; MCNEW, R. 1999. Effect of timing of artificial insemination on gender ratio in beef cattle. *Theriogenology* 52: 1035-1041.

SAMPER, J. 1997. Ultrasonographic appearance y the pattern of uterine edema to time ovulation in mares. [en línea]. **In:** Proceedings of the Annual Convention of the AAEP. Vol. 43. <<http://www.ivis.org> > [consulta: 20-12-2009].

SAMPER, J. 2008. Induction of estrus and ovulation: Why some mares respond and others do not. *Theriogenology* 70: 445-447.

SHARMA, S; MOREL, D; DHALIWAL, G; DADARWAL, D. 2009. The pattern of embryonic fixation and its relationship to pregnancy loss in thoroughbred mares. [en línea]. **In:** *Repro Dom Anim* <http://www3.interscience.wiley.com/journal/122607891> [consulta: 20-02-2010].

SILVA, L; GINTHER, O. 2006. An early vascular indicator of completed orientation of the embryo and the role of dorsal endometrial encroachment in mares, *Biol Reprod* 74: 337-343.

SPENCER, T; BURGHARDT, R; JOHNSON, G; BAZER, F. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Anin Reprod Sci* 82-83: 537-550.

STOUT, T; ALLEN, W. 2001. Role of prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus. *Reproduction* 121: 771-775.

TROEDSSON, M; RENAUDIN, C; ZENT, W; STEINER, J. 1997. Transrectal ultrasonography of the placenta in normal mares and mares with pending abortion: A field study. Proceedings of the Annual Convention of the AAEP Vol. 43. <<http://www.ivis.org> > [consulta: 20- 02-2010].

TROEDSSON, M; SAGE, A. 2001. Evaluación del feto y la placenta en la yegua. [en línea]. **In** Recent advances in equine reproduction, B.A. Ball (Ed). <<http://www.ivis.org> > [consulta: 20- 02-2010].

VÁZQUEZ-DUEÑAS, S; ESCOBAR-MEDINA, F; COLINA- FLORES, F; HAYDEN-VALLES, S. 2004. Comportamiento reproductivo de yeguas Pura Sangre Inglés en un criadero con partos al principio del año. Rev Biomed 15: 27-31.

WAINE, D. 2002. Estadística no paramétrica y de libre distribución. In: Bioestadística Base para el análisis de las ciencias de la salud. 4 Ed. Editorial Limusina Wiley, México. pp 707.

WILLIAMS, G; AMSTALDEN, M; BLODGETT, G; WARD,J; UNNERSTALL, D; QUIR, K. 2007. Continuous administration of low-dose GnRH in mares: I. Control of persistent anovulation during the ovulatory season. Theriogenology 68: 67-75.

WOLFSDOR, K 2006. Management of postfixation twins in mares. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice 22: 713-725.