



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



COMPARACIÓN DE HALLAZGOS ECOGRÁFICOS E
HISTOPATOLÓGICOS EN ÚTERO DE YEGUA FINA
SANGRE DE CARRERA

VÍCTOR MANUEL AGURTO DÍAZ

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

PROFESOR GUIA: ENRIQUE PINTO PEÑA

SANTIAGO, CHILE

2006



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



COMPARACIÓN DE HALLAZGOS ECOGRÁFICOS E
HISTOPATOLÓGICOS EN ÚTERO DE YEGUA FINA
SANGRE DE CARRERA

VÍCTOR MANUEL AGURTO DÍAZ

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

NOTA FINAL:.....

		NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA:	ENRIQUE PINTO:
PROFESOR CONSEJERO:	JULIO LARENAS :
PROFESOR CONSEJERO:	VICTOR PARRAGUEZ:
PROFESOR COLABORADOR:	NELSON CRUZ M.		

SANTIAGO, CHILE
2006

ÍNDICE

- Resumen	1
- Summary	3
- Introducción	5
- Revisión bibliográfica:	7
• Anatomía reproductiva	8
• Exámenes reproductivos	10
• Biopsia uterina	11
• Ecografía uterina	28
- Objetivos.	32
- Materiales y Método	33
- Resultados	40
- Discusión	58
- Conclusiones	64
- Bibliografía	65
- Anexos	71

RESUMEN

La subfertilidad en la yegua tiene un impacto económico negativo sobre la industria equina ya que afecta la producción de potrillos. Dentro de las numerosas causas que pueden incidir en la eficiencia reproductiva de una yegua, la inflamación y fibrosis uterina constituyen una de las más importantes alteraciones relacionadas con este problema. De esta forma, resulta fundamental un diagnóstico oportuno y preciso de estas patologías, para lo cual es necesaria la realización de un buen examen reproductivo.

En el presente estudio se utilizaron 2 técnicas de apoyo clínico disponibles actualmente en ginecología equina, tales son la ecografía y la histopatología, con el fin de asociar los hallazgos encontrados en útero de yeguas Fina Sangre de Carrera (FSC).

Los hallazgos ecográficos que caracterizaron la presencia de inflamación uterina fueron presencia de líquido en el lumen uterino, representada por una imagen ecográfica hipoeoica o anecoica, y/o aumento del grosor de la pared uterina, mientras que histopatológicamente, esta alteración se caracterizó por la presencia de PMN, linfocitos u otro tipo de células (plasmocitos, eosinófilos). En cuanto a la fibrosis, el principal hallazgo ecográfico fue la visualización de una imagen altamente ecoica presente en el área endometrial, mientras que histopatológicamente la presencia de fibras colágenas fue indicativa de esta alteración.

Al comparar las biopsias de áreas ecográficas normales y alteradas de un mismo útero, con fibrosis o inflamación, no se encontraron diferencias importantes.

Los análisis para establecer el grado de asociación que existe entre el examen ecográfico e histopatológico de inflamación y fibrosis uterina arrojaron que para el caso de inflamación no existe asociación entre los dos diagnósticos con respecto a la severidad y las características del foco; mientras que, para la fibrosis se determinó que sí existe asociación entre ambos diagnósticos en lo que respecta a la distribución de la lesión, número de focos fibróticos por campo y número de capas alrededor de las glándulas.

Por otro lado, el porcentaje de área de colágeno fue mucho mayor para las muestras del grupo fibrosis (1,60) que las tipificadas para el grupo inflamación (0,12) y el grupo control sano (0,21).

Finalmente, según esta experiencia la técnica ecográfica sería de gran utilidad en el diagnóstico presuntivo de fibrosis endometrial, mientras que para inflamación, estadísticamente esta técnica no resultó ser adecuada para su diagnóstico. Sin embargo para definir con mayor precisión la real utilidad de la técnica para detectar la inflamación endometrial, harían falta otros estudios con una mayor cantidad de muestras.

Palabras clave: yegua, útero, biopsia, ecografía, fibrosis, inflamación.

SUMMARY

Subfertility in the mare has an economic negative impact on equine industry since it affects the production of foals. Inside the numerous reasons that can affect the reproductive efficiency of a mare, inflammation and uterine fibrosis constitute one of the most important alterations related to this problem. Thus, it is fundamental an opportune and precise diagnosis of these pathologies, for which is necessary the accomplishment of a good reproductive examination.

In the present study two techniques of clinical support nowadays available in equine gynaecology were used echography and histopathology, in order to associate the findings in uterus of thoroughbreds mares.

The echographic findings that characterized the presence of uterine inflammation were a presence of liquid in the uterine lumen, represented by an hypoechogenic or anecogenic ultrasound image, and / or increase of the thickness of the uterine wall, whereas histopathologically, this alteration was characterized by PMN's presence, lymphocytes or another type of cells (plasma cell, eosinophils). As for the fibrosis, the main echographic finding was the visualization of an highly echogenic image present in the endometrial area, whereas histopathologically, the presence of collagenous fibers was indicative of this alteration.

On having compared the biopsies of normal and altered echographic areas of the same uterus, with fibrosis or inflammation, important differences were not found

The analyses to establish the degree of association that exists between the ecographical and histopathological examination of inflammation and uterine fibrosis showed that for the case of inflammation there is no association between both diagnoses with regard to the severity and the characteristics of the focus; whereas, for the fibrosis it was determined that association does exist between both diagnoses regarding the

distribution of the lesion, number of fibrotic foci per field and number of layers surrounding glands.

On the other hand, the percentage of collagen area was much larger for the samples of the fibrosis group (1,60) than for the typified as inflammation group (0,12) and the healthy control group (0,21).

Finally, according to this experience the echographic technique would be of great usefulness in the diagnosis of endometrial fibrosis, whereas for inflammation, statistically, this technology did not turn out to be adequate for its diagnosis. Nevertheless to define with major precision the real utility of the technology to detect the endometrial inflammation, other studies with a higher quantity of samples would be needed..

Keywords: mare, uterus, biopsy, echography, fibrosis, inflammation.

INTRODUCCIÓN

En la industria equina, la obtención de un mayor número de crías y que éstas nazcan lo más temprano posible en la temporada de partos, son condiciones de gran importancia para el éxito de la crianza de caballos FSC.

En términos de eficiencia reproductiva la mayor responsabilidad se le atribuye a la yegua, y por ende, la baja fertilidad de ésta se convierte en un problema de gran trascendencia, ya que se asocia a pérdidas que redundan en una menor disponibilidad anual de potrillos seleccionados y en la eliminación de buenas líneas sanguíneas maternas.

La eficiencia reproductiva de una yegua, es el resultado de la asociación de factores biológicos y normas de manejo. De esta forma, la posibilidad de mejorar los índices reproductivos dependerá del conocimiento acabado de estos factores y de sus interacciones.

Entre los factores biológicos existen fenómenos fisiológicos y patológicos que pueden influir significativamente en la fertilidad. Entre estos últimos podemos mencionar a la inflamación y fibrosis uterina, las cuales constituyen las principales alteraciones encontradas en el endometrio de yeguas con problemas reproductivos.

Los métodos ginecológicos que comúnmente son utilizados en nuestro medio, tales como, tacto rectal, vaginoscopía, cultivos bacteriológicos y citología, entre otros, no son capaces de pesquisar alteraciones relacionadas con la baja fertilidad en un alto porcentaje de yeguas. A raíz de esto, se han desarrollado otras técnicas, que en conjunto con los procedimientos clínicos de rutina, permiten dar un diagnóstico reproductivo más preciso de la hembra subfétil. Es así, como se ha desarrollado la técnica de biopsia uterina, la cual ha demostrado tener un valor diagnóstico y pronóstico de la fertilidad de una yegua, ya que estudia directamente el estado del endometrio, lugar donde ocurre un contacto íntimo y prolongado con el embrión. Sin embargo, la biopsia uterina implica ciertas desventajas tales como ser un método invasivo, de lento procesamiento de las muestras obtenidas y alto costo económico en relación a otras técnicas de diagnóstico.

Por otro lado, la ginecología equina dispone actualmente de la ecografía como otra técnica de apoyo clínico. Ésta, a diferencia de la anterior, no es invasiva y permite tener acceso visual a la anatomía interna de los órganos reproductivos, por lo que representaría una ventajosa herramienta para evaluar estas patologías.

En el presente estudio se determinó si las imágenes ecográficas son representativas como diagnóstico presuntivo de inflamación y fibrosis uterina, en comparación con el método de biopsia uterina.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En la especie equina la eficiencia reproductiva es menor que en otras especies domésticas, lo que puede deberse a una serie de factores, tales como la estacionalidad reproductiva, comportamiento errático de los ciclos estrales y falta de selección por aptitud reproductiva (LeBlanc, 1998; Hafez, 2000).

La yegua se define como poliéstrica estacional de actividad sexual en días largos (Ginther, 1986). Esto implica que es receptiva al padrillo mostrando ciclos ovulatorios sólo durante primavera, verano y primeros meses de otoño (Kenney y Doig, 1986; LeBlanc, 1998). En este periodo reproductivo la yegua manifiesta repetidos ciclos estrales de aproximadamente 21 ± 2 días de duración total, con cuatro a seis días de estro, momento en el cual presenta un folículo maduro y acepta la monta. La ovulación ocurre normalmente 24 a 48 horas antes del fin del estro y es seguida de un periodo de 16 a 17 días de diestro, caracterizado por un cuerpo lúteo funcional y rechazo al padrillo (Adams y Bosu, 1993; LeBlanc, 1998).

Los efectos estacionales sobre los ciclos ováricos de la yegua determinan que éstos puedan dividirse en tres fases anuales (LeBlanc, 1998):

- Ovulatoria: Período que transcurre desde la primera ovulación en la primavera hasta la última ovulación al final del verano o inicios de otoño.
- Anovulatoria: Involucra el período de inactividad ovárica durante los meses de invierno.
- Transicional: Período de receptividad estrogénica prolongado o irregular, presente desde el inicio del otoño hasta el final de la primavera.

Cuando el útero se encuentra en la fase anovulatoria, sin el estímulo de los estrógenos y progesterona gonadales, éste se presenta con atonía y con paredes delgadas. Microscópicamente se observa atrofia glandular y compactación del estroma debido a la ausencia de edema. El cérvix es flácido y difícil de palpar (LeBlanc, 1998; Hafez, 2000).

La fase transicional se caracteriza por el reestablecimiento paulatino de la función endocrina, conducta sexual errática y desarrollo de folículos sin ovulación. Se producen cambios físicos sobre todo en los ovarios, los cuales aumentan de tamaño debido al desarrollo folicular. En este periodo el útero no presenta mayores cambios, ya que mantiene sus paredes delgadas y flácidas, pero a medida que aumenta la cantidad de folículos, a la palpación se perciben algunas modificaciones (LeBlanc, 1998).

En la fase ovulatoria, la vulva se expande y los pliegues labiales se tornan laxos. Los pliegues uterinos se hacen más prominentes y el útero a la palpación se encuentra flácido y edematoso (LeBlanc, 1998; Hafez, 2000).

I. Anatomía reproductiva.

- Ovarios:

El ovario es una combinación de glándula exocrina y endocrina, es decir, produce tanto ovocitos (secreción exocrina) como hormonas ováricas, principalmente estrógenos y progesterona (secreción endocrina) (Priedkalns, 1994). En la yegua, se encuentran ubicados por debajo de la cuarta o quinta vértebra lumbar (Cíntora, 2006; Sisson y Grossman, 1982). Su forma se asemeja a la de un poroto y están recubiertos por el peritoneo (Cíntora, 2006). Su tamaño varía mucho entre animales siendo normalmente más grandes en los jóvenes que en los adultos. Frecuentemente, un ovario es de mayor tamaño que el otro, con alrededor de siete a ocho cm. de largo y tres a cuatro cm de ancho (Sisson y Grossman, 1982).

- Trompas uterinas:

Son estructuras bilaterales y tortuosas de 20 a 30 cm de largo, que se extienden desde la región del ovario hasta los cuernos uterinos. En ellas se pueden distinguir tres segmentos: el infundíbulo, la ampolla y el istmo que se une al útero. Su función consiste en

conducir a los ovocitos, espermatozoides y cigotos (Priedkalns, 1994). Están formadas por una capa externa fibroserosa, una capa intermedia de fibras musculares lisas y una capa interna mucosa (Cíntora, 2006).

- Útero:

Es un órgano muscular de pared gruesa que ocupa un lugar central en la pelvis. Su forma es tubular y consta de cuernos bilaterales que están conectados a las trompas uterinas, un cuerpo y un cuello o cérvix que se une con la vagina (Priedkalns, 1994). El cuello uterino se proyecta en sentido caudal dentro de la cavidad de la vagina y es en realidad un robusto esfínter de músculo liso firmemente cerrado, excepto en el periodo de celo y en el acto del parto (Cíntora, 2006; Sisson y Grossman, 1982). Según la etapa del ciclo reproductivo el útero experimenta una definida sucesión de cambios. Es así como, durante el celo el cuello se distiende ligeramente, lo que permite que el eyaculado ingrese directamente al útero. A su vez, durante este periodo, no es raro que cierta cantidad de mucus salga por el cuello y se expulse por la vulva (Priedkalns, 1994; Cíntora, 2006).

- Vagina:

Es un tubo muscular que se ubica horizontalmente en la cavidad de la pelvis, entre el cérvix y la vulva (Priedkalns, 1994). Mide aproximadamente 20 cm de largo y sirve como receptáculo del miembro masculino durante la cópula (Cíntora, 2006).

- Vulva:

Es la parte externa del aparato reproductor de la yegua y continuación de la vagina. Consta de dos labios con una gran cantidad de glándulas sudoríparas y sebáceas (Priedkalns, 1994; Cíntora, 2006).

II. Exámenes reproductivos.

La subfertilidad en la yegua afecta la producción de potrillos y causa el retiro de muchas buenas líneas maternas (Gary y Manning, 1969). Es por esta razón que un buen examen reproductivo es fundamental para diagnosticar en forma oportuna problemas de este tipo.

Existe una serie de pasos a seguir para evaluar el potencial de fertilidad de una yegua, los cuales deben ser desarrollados en forma sistemática y sus resultados deben ser interpretados en forma oportuna para no calificar de manera errónea su capacidad reproductiva (De la Concha-Bermejillo y Kennedy, 1982; Hughes, 1982).

La evaluación consta de una historia reproductiva remota y reciente de la yegua, dando importancia a factores como pariciones anteriores, manejo realizado en el criadero, potro con el que fue servida, entre otros (Kenney, 1978; Muñoz, 1995). A continuación, se realiza un examen físico, en el cual se observa la condición general del animal. En relación a esto, un punto importante de evaluar es la conformación y angularidad de la vulva (Kenney, 1978; Mather *et al.*, 1979). Esto se debe a que cambios en la conformación de ésta predisponen a infección uterina disminuyendo la fertilidad de la hembra (Hemberg *et al.*, 2005). Posteriormente, se ejecuta un examen genital interno, el cual se realiza por recto y por vagina. En el examen transrectal se palpa tono uterino, la forma y el tamaño de los ovarios. Este estudio es conveniente realizarlo con ayuda de un ecógrafo y así poder observar cérvix, útero y ovarios (Ginther, 1986).

Además, se puede recurrir a exámenes especiales tales como la citología, cultivos bacterianos y biopsia endometrial. La citología, es una técnica simple, segura y de resultado rápido que ayuda a la interpretación de cultivos bacterianos (Ricketts y Winfield, 1982). Sin embargo, solamente indica la presencia de endometritis y no la etiología de ésta (Nielsen, 2005). Por otro lado, los cultivos bacterianos han sido usados para el diagnóstico de infecciones uterinas desde comienzos del siglo pasado (Nielsen, 2005), transformándose actualmente en una práctica común entre los procedimientos utilizados para la evaluación

de endometritis y/o baja fertilidad (Woolcock, 1982). Las bacterias comúnmente aisladas de cultivos provenientes de úteros de yeguas con baja fertilidad son *Streptococcus zooepidemicus* y *Escherichia coli*. Levaduras, hongos, *Pseudomonas spp* y *Klebsiella spp* son más frecuentemente aisladas en casos severos y de larga data (LeBlanc, 2004a). Por último, la biopsia endometrial determina los cambios funcionales y patológicos del endometrio a través de la histología (Carroll y Mitchell, 1982; Reiswing *et al.*, 1993).

III. Biopsia uterina.

La biopsia endometrial es una técnica relativamente fácil, simple y segura en la yegua (De la Concha-Bermejillo y Kennedy, 1982; Kenney y Doig, 1986). Requiere de una sujeción mínima del animal, ya que no produce incomodidad o dolor y puede ser practicada por un médico veterinario con un equipamiento mínimo (Ricketts, 1975; Doig *et al.*, 1981; Kenney y Doig, 1986).

Debido a la fácil dilatación del cérvix equino, el procedimiento puede ser realizado durante cualquier estado del ciclo estral. Sin embargo, es importante tener presente los cambios que ocurren en la arquitectura endometrial, debido a que los esteroides ováricos varían mucho según estación del año y periodo en que se encuentre dentro del ciclo estral (Kenney, 1978; Kenney y Doig, 1986).

La biopsia compromete casi exclusivamente una porción de un pliegue endometrial sin fibras musculares, aunque ocasionalmente incluye una porción de la primera capa circular del miometrio. Según estudios realizados por Kenney (1975), se estableció que una muestra de biopsia uterina simple es representativa del endometrio total y que sería en promedio, alrededor de un 0,2% de la superficie total del útero (850-1.350 cm²). Sin embargo, cuando la biopsia es obtenida de la región cervical, no tiene la misma representatividad (Blanchard *et al.*, 1987).

Las principales lesiones encontradas en las muestras de biopsias endometriales equinas son la fibrosis e inflamación, las que a su vez, constituyen una de las causas importantes de baja fertilidad (Kenney y Doig, 1986; Evans *et al.*, 1998; Ganjam y Evans, 2006). Estudios realizados al respecto sugieren que el grado de fibrosis es más importante que el grado de inflamación para determinar un pronóstico de fertilidad futura (Gordon y Sartin, 1978; Van Camp, 1993). La extensión y severidad con que la fibrosis afecta al endometrio, parecen estar directamente relacionadas con la habilidad del útero de mantener una preñez hasta su término (Kenney, 1978). En este contexto, se ha planteado que esta alteración contribuye a la pérdida embrionaria y fetal; y que el grado de ésta se correlaciona inversamente con la probabilidad de concepción y gestación exitosa, ya que produce daño de la superficie endometrial, retarda el desarrollo microcotiledonario, reduce el crecimiento fetal y altera la secreción glandular endometrial (Evans *et al.*, 1998). Con respecto a este último punto, el mecanismo específico que altera la secreción glandular no ha sido bien definido, pero muchos trabajos sostienen el concepto que la fibrosis periglandular tiene un efecto significativo en la sobrevivencia fetal temprana (LeBlanc, 2004b).

Por otro lado, la inflamación uterina conlleva severos efectos en la fertilidad de las yeguas. Se plantea que la inflamación persistente provocaría luteólisis prematura y pérdida embrionaria, debido a que ésta alteración incrementaría las concentraciones de prostaglandina F_{2α}. Además, se sugiere que puede interferir directamente en la sobrevivencia del embrión, ya que la presencia de productos de la inflamación es incompatible con la sobrevivencia de éste (Barry, 1988; Troedsson, 1999).

Como patologías no tan frecuentes, se cita a la atrofia e hipoplasia endometrial y la hiperplasia glandular, entre otras (Ricketts, 1975; Kenney, 1978; Doig *et al.*, 1981). La presencia de neoplasias uterinas son muy poco frecuente (Kenney, 1978; Doig *et al.*, 1981; Walter *et al.*, 2001).

La biopsia constituye el mejor medio de confirmación de las alteraciones endometriales y se ha desarrollado como un ventajoso método para la ayuda en el

diagnóstico y pronóstico de la habilidad del endometrio para llevar un potrillo a término (Kenney y Doig, 1986; LeBlanc, 2004a). Por otro lado, Van Camp (1993) afirmó que la biopsia endometrial es un método seguro y efectivo para determinar el estado histológico del útero de la yegua, con el fin de predecir la probabilidad de parición. Sin embargo, ésta debe integrarse a los hallazgos físicos, citológicos, microbiológicos, endocrinológicos y del comportamiento. Cuando la técnica es usada correctamente, provee una importante información que es necesaria para evaluar fielmente la capacidad reproductiva de la yegua (Kenney y Doig, 1986). Pese a todo lo anterior, es importante recalcar que la interpretación de los hallazgos es de tipo semicuantitativa y subjetiva, basada únicamente en el examen histológico de muestras de biopsia (Evans *et al.*, 1998).

Por otra parte, por medio de la biopsia se puede confirmar el resultado del cultivo bacteriano de secreción cérvico-uterina, mediante la visualización de cambios inflamatorios del estroma uterino, presencia de microorganismos dentro del lumen o colonias en los conductos glandulares (Ricketts, 1975). Sin embargo, se han informado correlaciones variables entre los resultados dados por el cultivo y los hallazgos histopatológicos de endometritis (Kenney, 1978; Doig *et al.*, 1981)

Finalmente, debido a que las lesiones endometriales comprometen de alguna manera la habilidad del útero de mantener una preñez hasta su término, se han realizado diversos estudios para clasificar dichas lesiones en grupos según el tipo y severidad. Así, es posible pronosticar la fertilidad potencial de las yeguas, en base a la tasa de parición para cada grupo (Kenney, 1978).

De esta forma, se ha establecido una clasificación de los distintos grados de alteraciones endometriales, con el objetivo de evaluar el estado del útero y consecuentemente predecir su capacidad funcional (Evans *et al.*, 1998).

Originalmente existía una clasificación hecha por Kenney en 1978, la cual presentaba tres categorías, I, II y III, que correspondían a mínima, suave o moderada y severa fibrosis y/o inflamación, respectivamente. Subsecuentemente, Kenney y Doig en 1986 modificaron

esta clasificación subdividiendo la categoría II en IIA y IIB, correspondientes a suave y moderada fibrosis y/o inflamación, respectivamente (Evans *et al.*, 1998; Ganjam y Evans, 2006). Esta clasificación es la que actualmente se utiliza en los laboratorios histológicos a nivel mundial. En estudios posteriores, Evans *et al.* (1998), establecieron que la densidad de fibroblastos y de fibras de colágeno en la lámina propia del tejido endometrial periglandular, aumenta junto con el incremento de grados de esta clasificación.

- **Clasificación de Kenney y Doig 1986:**

- **Categoría I:** El endometrio no presenta cambios patológicos y si los tiene son muy leves y esporádicos. No se encuadra dentro de esta categoría un endometrio hipoplásico o atrófico. Esta categoría presenta una probabilidad de llevar un potrillo a termino de 80 a 90 %.

- **Categoría II:** Presencia de infiltrado inflamatorio difuso, de leve a moderado en el estrato compacto; o focos inflamatorios dispersos pero frecuentes en el estrato compacto y el esponjoso. Cambios fibróticos aislados, con grado variable de severidad (de 1 a 3 capas alrededor de nidos glandulares). Lagunas linfáticas evidentes y atrofia endometrial parcial.

Categoría IIA: La presencia de uno de los cambios mencionados anteriormente ubica al endometrio estudiado en esta categoría. Esta categoría presenta una probabilidad de llevar un potrillo a termino de 50 a 80 %.

Categoría IIB: En ella se incluyen las muestras con más de uno de estos cambios. Esta categoría presenta una probabilidad de llevar un potrillo a termino de 10 a 50 %.

- **Categoría III:** Inflamación severa difusa, generalizada; fibrosis periglandular generalizada; lagunas linfáticas palpables e hipoplasia endometrial. Esta categoría presenta una probabilidad de llevar un potrillo a termino de 10 %.

Con el propósito de interpretar las muestras endometriales en forma sistemática, es necesario conocer la estructura histológica del útero de la yegua.

• **Microestructura del útero** (Figura 1):

Este órgano se compone de tres capas. La primera es la mucosa o endometrio, la cual, a diferencia de la mujer, no se desprende o recambia en cada ciclo reproductivo. La segunda capa es el miometrio y la tercera y más externa, es el perimetrio (Sisson y Grossman, 1982; Priedkalns, 1994).

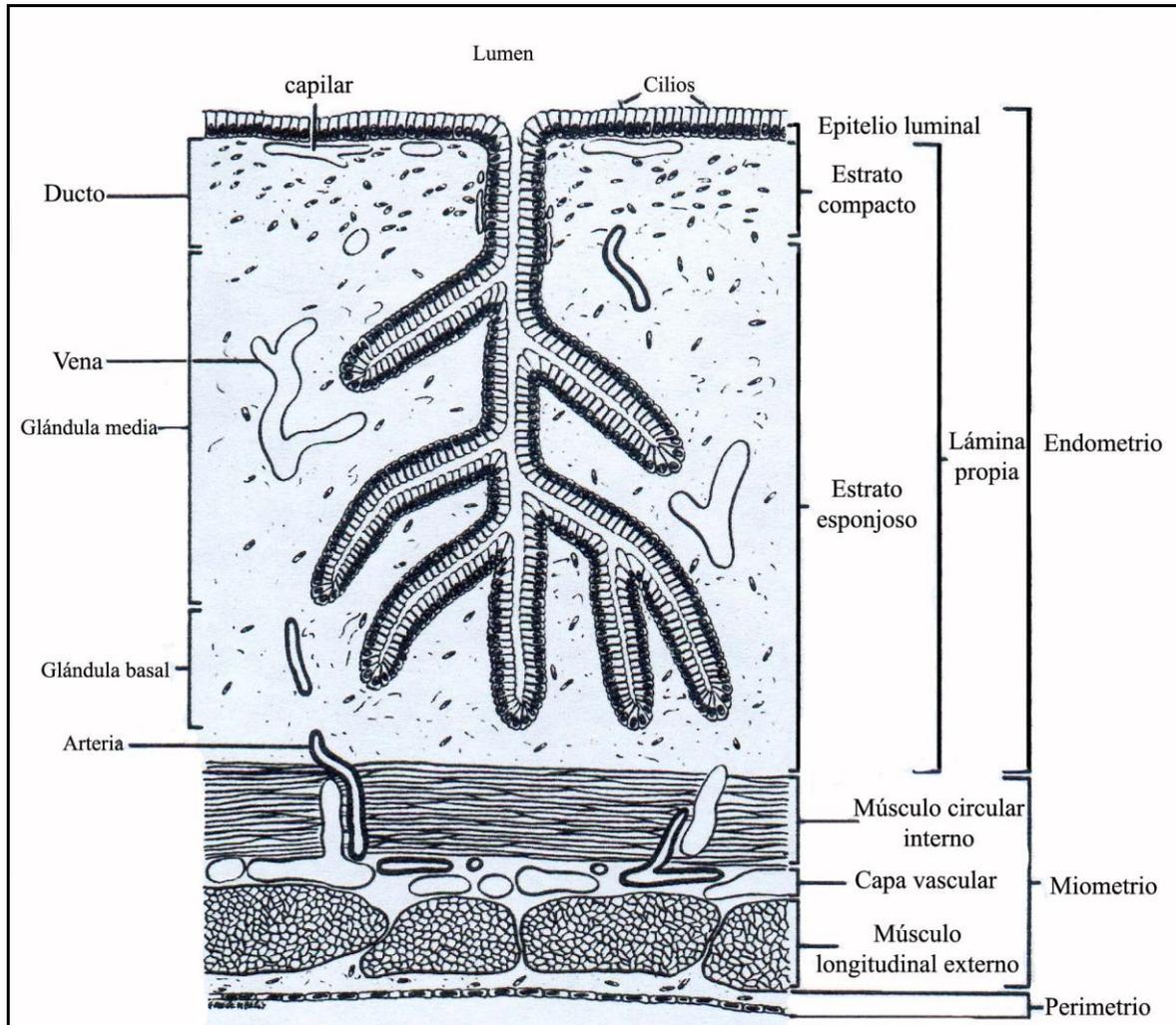


FIGURA 1. Diagrama de corte transversal de útero de yegua.
Fuente: Kenney, 1978.

El endometrio de la yegua es no deciduado, tiene 2 capas, el epitelio luminal y la lámina propia. El epitelio luminal está constituido por una sola capa de células que pueden variar de cuboidales a columnares y se encuentran apoyadas sobre la membrana basal. Menos de la mitad de las células son ciliadas y la altura varía en relación a las fases del ciclo estral (Kenney, 1978).

La lámina propia se extiende desde la membrana basal hasta la capa muscular y está formada por 2 capas que se dividen con propósitos descriptivos en base a la densidad de las células del estroma. Éstas son el estrato compacto y el estrato esponjoso. El estrato compacto sostiene al epitelio luminal y mide alrededor de 0,75- 1,0 mm de espesor. Se caracteriza por una densidad relativamente alta de células del estroma, así como por numerosos capilares debajo de la membrana basal. Las células del estroma son irregularmente estrelladas con núcleo oval y escaso citoplasma. Por otro lado, el estrato esponjoso está debajo de la capa celular densa y está formado por numerosas fibras y células conectivas que dejan espacios entre ellas, los cuales son llenados normalmente por fluido tisular, dando el aspecto de tejido esponjoso. Los vasos sanguíneos de este estrato son: capilares, arteriolas, vénulas y ocasionalmente pequeñas arteriolas musculares; además, hay numerosos vasos linfáticos (Kenney, 1978).

Otra característica de la lámina propia es la presencia de numerosas glándulas uterinas (Priedkalns, 1994). Éstas derivan del epitelio luminal y se conectan a través de ductos que generalmente no tienen ramificaciones. La porción restante de las glándulas está dividida con propósitos descriptivos en una porción media y una porción basal que se encuentra en el estrato esponjoso. Consiste en prolongaciones o ramificaciones tubulares con 10 o más ramificaciones primarias y unas pocas ramificaciones secundarias (Kenney, 1978).

Por su parte el miometrio está formado por fibras musculares lisas separadas por tejido conectivo. Presenta una capa circular interna, una longitudinal externa y entre ambas existe una capa vascular (Priedkalns, 1994).

La tercera capa es el perimetrio o serosa, constituida por mesotelio y tejido conectivo laxo. Esta capa en algunas zonas se continúa con el ligamento ancho (Priedkalns, 1994).

Además de conocer acabadamente la microestructura uterina, la correcta evaluación de una muestra de biopsia, debe considerar otros aspectos relacionados.

• **Aspectos a considerar en la evaluación histológica de una muestra** (Kenney, 1978; Kenney y Doig, 1986):

- El tamaño y número de cortes histológicos (muestra apropiada ≥ 2 cm; menos de 1 cm se considera insuficiente).

- El estado del ciclo estral en el cual la muestra se obtuvo.

- Los cambios observados en cada estrato.

- La interpretación de los hallazgos histológicos en conjunto con los antecedentes reproductivos, clínicos y microbiológicos para clasificar la muestra en alguna de las categorías.

En una muestra de biopsia pueden existir artefactos que interfieren con una buena evaluación, ya que ésta es un derivado quirúrgico y, por lo tanto, está sujeta a cambios vasculares no relacionados con causas fisiológicas espontáneas o patológicas. Es así como, hiperemia, edema y hemorragia están más a menudo asociadas a la obtención de la muestra que a cambios espontáneos, por lo cual estos cambios no pueden utilizarse con propósitos interpretativos. También es común observar intususcepción de glándulas en los márgenes de la muestra, como resultado de compresión ocurrida durante la obtención de la biopsia. Por otro lado, a lo largo de la superficie de corte frecuentemente ocurren distorsiones como pérdida del epitelio luminal durante la obtención o procesamiento de la muestra (Kenney, 1978). Un acabado conocimiento de estos hallazgos facilita enormemente la realización de

un diagnóstico adecuado.

A su vez, uno de los aspectos importantes a considerar en la evaluación de una muestra de biopsia, es el estado del ciclo estral en el cual ésta se obtuvo, ya que la interpretación histológica del endometrio puede verse afectada (Gross y LeBlanc, 1984).

- **Estimación del estado del ciclo estral:**

- **Proestro:**

El epitelio es columnar de baja a moderada altura (15-20 μm) y varía de simple a pseudoestratificado. Durante el proestro, ocasionalmente, las ramificaciones de las glándulas individuales originan "nidos". Estas nidaciones aparecen como resultado del edema del estroma interglandular que se forma más rápidamente en esta zona que alrededor del estroma de los brazos de una misma glándula. La forma normal de la nidación debe ser diferenciada de la forma patológica. Esta última resulta usualmente de una fibrosis periglandular y no está relacionada con el estado del ciclo estral. Las glándulas se observan delgadas y menos tortuosas que durante el diestro (Kenney, 1978; Van Camp, 1993).

- **Estro:**

El epitelio luminal alcanza su altura máxima (20 - 30 μm) en el estro temprano, pudiendo llegar a 50 μm . En algunas yeguas el epitelio puede disminuir de altura (15 μm) en el estro tardío, aunque en otras la disminución no ocurre hasta varios días después del cese de la conducta estral. La vacuolización citoplasmática es común en las células del epitelio luminal sólo en el tercio basal. Durante el estro existe la tendencia de los polimorfonucleares neutrófilos (PMN) a acumularse en la zona marginal de las vénulas y capilares cerca del lumen uterino, aunque esto también ocurre durante procesos inflamatorios. El edema debe estar acompañado de PMN y de las características epiteliales

y vasculares anteriormente citadas, ya que éste puede existir como artefacto y confundir el cuadro en otros estados del ciclo (Kenney, 1978; Van Camp, 1993).

La densidad de glándulas por unidad de área es baja comparada con otras etapas y ellas están dispuestas en forma alargada. El epitelio que las recubre es columnar alto de núcleos pálidos (Kenney, 1978; Ricketts, 1975; Ricketts *et al.* 1977).

- Metaestro:

Es una fase transitoria entre el estro y el diestro. No se encuentra claramente definida, pero en él se observa un alto número de conductos glandulares en el estroma, cuyas células presentan una alta división mitótica (Kenney, 1978).

- Diestro:

Durante el diestro temprano (siete primeros días después del estro), el epitelio puede ser columnar alto (20 μm) o bajo (15 μm) y ocasionalmente alcanzar los 10 μm . Después del día siete la altura del epitelio tiende a incrementarse (15 μm) y generalmente alcanza 20 μm antes del estro. Existe un aumento de la densidad glandular relativa por 2 razones: el edema del estroma disminuye y las glándulas aumentan su tortuosidad de leve a marcada, probablemente como resultado de un incremento de su longitud, combinada con una disminución del edema. El lumen nuevamente se hace estrecho (Kenney, 1978).

- Anestro:

El endometrio normalmente entra en algún grado de atrofia durante la etapa de anestro normal. Se caracteriza por un epitelio luminal cuboidal (10 μm) el cual presenta un incremento de la basofilia del citoplasma, lámina propia no edematosa y una población glandular de alta densidad, relativamente recta y con un epitelio columnar bajo a cuboidal. Además, en muchas glándulas se tiende a acumular una secreción espesa entre el ducto y la porción superior de la glándula. Este material es amorfo, hialino o granular y eosinofílico.

Es posible encontrar glándulas individuales que contienen células epiteliales no atróficas y que incluso pueden ser hipertróficas (Kenney, 1978).

Estos cambios en la morfología endometrial representan eventos normales de los ciclos estrales de la yegua. Sin embargo, existen otros hallazgos que pueden ser visualizados en las muestras de biopsias, que corresponden a cambios patológicos del endometrio y que eventualmente pueden interferir con su función.

- **Determinación de cambios patológicos (Figura 2):**

El examen histopatológico se debe realizar en forma metódica, desde el lumen hasta el miometrio.

- 1. Inflamación:**

Las condiciones inflamatorias del útero, conocidas en general como endometritis, representan una importante causa de disminución de la fertilidad en yeguas (Hurtgen, 2006). Se pueden distinguir dos tipos de endometritis, la endometritis aguda y la endometritis crónica. La primera se caracteriza por la presencia principalmente de PMN y la segunda por poseer una infiltración mayoritaria de linfocitos acompañados por un menor número de plasmocitos, eosinófilos, macrófagos y mastocitos (Kenney, 1978; Leishman *et al.*, 1982).

Con un propósito descriptivo los cambios inflamatorios pueden clasificarse según (Kenney, 1978):

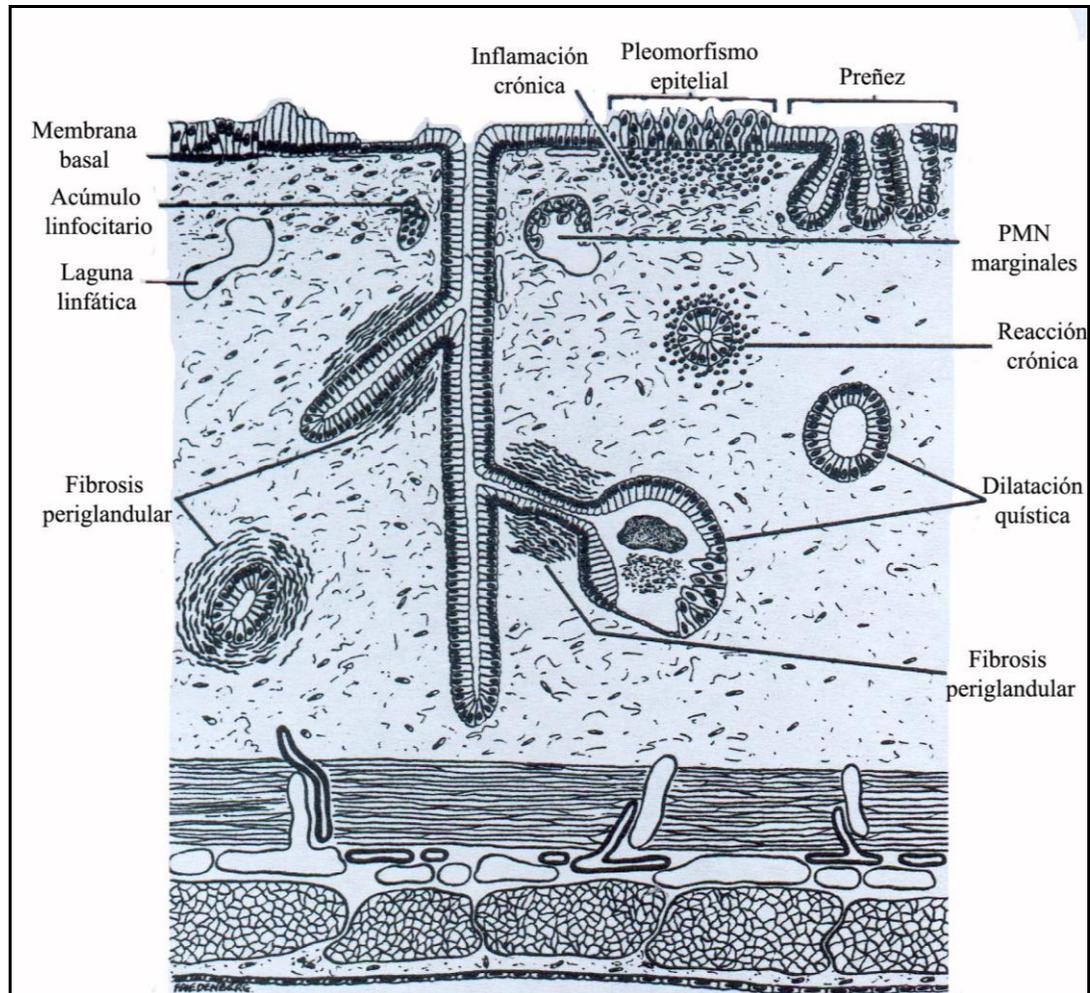


FIGURA 2. Diagrama de los cambios patológicos en útero de yegua.
Fuente: Kenney, 1977.

a) Distribución de la lesión:

- Según frecuencia: Pueden clasificarse en extensa, dispersa, frecuente, moderada e infrecuente. Lesiones extensas son aquellas que son numerosas y aparecen por toda la sección histológica. Cuando las lesiones son pocas y están irregularmente distribuidas se denominan dispersas. Las lesiones varían de frecuente a infrecuente, pero pueden ser cuantificadas en forma más precisa indicando el número promedio de lesiones/mm² o el número de lesiones/mm².

- Según distribución anatómica: Las lesiones pueden ubicarse en el estrato compacto, esponjoso, perivascular o periglandular (región del ducto, medial y basal).

b) Tipo de célula predominante y característica del foco:

- Célula tipo: PMN, linfocitos, macrófagos, plasmocitos, eosinófilos y mastocitos.

Los PMN y linfocitos indican endometritis aguda y crónica, respectivamente. Los macrófagos son histiocitos que han sido activados para fagocitar material que usualmente consiste en desechos de productos endógenos, material extraño de baja absorción y medicamentos irritativos. El macrófago más común es el siderófago o macrófago "tragador" de eritrocitos hemorrágicos, cuyo remanente ha sido convertido en un pigmento café-amarillento, conocido como "hemosiderina". Los siderófagos se encuentran ocasionalmente dispersos por todas partes, sobre todo post parto.

Los plasmocitos residen más frecuentemente sobre el estrato compacto, pero pueden encontrarse a cualquier nivel. Dado que son productores de anticuerpos (Ac) humorales, su presencia es interpretada como indicativa de antígenos (Ag), los que se presume son de naturaleza microbiana.

Los eosinófilos pueden ser observados en focos difusos y dispersos, usualmente en el estrato compacto. No ha sido posible discriminar si la infiltración eosinófila está relacionada con el estado del ciclo estral o a otro evento. Al parecer, estas células se encuentran más frecuentemente en úteros inflamados durante el estro. Se asume que representan una reacción Ag-Ac de naturaleza no definida.

Los mastocitos están distribuidos por toda la lámina propia, con un mayor número en el estrato compacto subepitelial y alrededor de los vasos. Son difíciles de detectar con tinción de Hematoxilina-Eosina, pero son rápidamente identificados con tinciones metacromáticas, tal como azul de toluidina.

- Características del foco: Los focos son clasificados como discretos o difusos. Acumulaciones discretas son aquellas que están bastante definidas, delineadas y concentradas.

c) Severidad de las lesiones:

Arbitrariamente se clasifican los grados de severidad del foco celular según el tamaño de la lesión. Acumulaciones individuales bajo 120 μm son consideradas como pequeñas; aquellas entre 120-300 μm son moderadas y aquellas mayores a 300 μm se consideran lesiones grandes.

2. Fibrosis:

La fibrosis endometrial corresponde a la acumulación de tejido conectivo en el estroma endometrial y alrededor de las glándulas (Kenney y Doig, 1986; Allen, 1993). Esta alteración, a diferencia de la inflamación, es permanente; es decir, no es posible revertir el cuadro (Kenney y Doig, 1986; Ganjam y Evans, 2006). Las células del estroma de la lámina propia normalmente no producen colágeno; sin embargo, ellas poseen la habilidad de depositarlo como respuesta a inflamaciones crónicas y a otros estímulos. Frecuentemente, ocurre sin la presencia de células inflamatorias y en ciertos casos corresponde a una cicatriz proveniente de una inflamación previa, pero también puede surgir como resultado de otros factores no relacionados con inflamación como el uso de compuestos irritantes en lavados uterinos (Kenney, 1978).

La fibrosis periglandular, por su parte, puede ocurrir como respuesta a distensión quística de la región basal de la glándula, que aparentemente se produce por estancamiento del flujo de secreciones, debido a distonía o hipotonía miometrial. Además la secreción de la región media de la glándula es espesa lo que fomenta su acumulación (Kenney, 1978).

Una evidencia temprana de fibrosis es la pérdida de células y núcleos del estrato compacto y esponjoso. La fibrosis puede afectar a los brazos de una glándula o de varias glándulas formando nidos (Kenney, 1978).

La fibrosis periglandular compromete la función de la glándula, separándola del epitelio y de la red de capilares. El colágeno interfiere con la integridad del epitelio, lo que

se evidencia por la hipertrofia epitelial que tiende a ocurrir en estados tempranos; sin embargo, la atrofia y el pleomorfismo ocurren tardíamente. A menudo el depósito de colágeno es en el estrato compacto y membrana basal; menos común es que se afecte sólo la membrana basal (Kenney, 1978).

Con un propósito descriptivo, los cambios fibróticos son clasificados según la distribución y grado de severidad de las lesiones (Kenney, 1978).

La distribución y frecuencia es la misma usada en el caso de inflamación, mientras que la severidad es calificada según el número de capas de fibrosis alrededor de los conductos glandulares, entendiéndose como leve de 1 a 3 capas, moderada de 4 a 10 capas y severa mayor a 11 capas. Por otro lado, la severidad puede ser calificada según el número de focos en un campo lineal, dejando la lámina propia como diámetro. De acuerdo a esto existen dos categorías, leve menor a 3 nidos en $5,5 \text{ mm}^2$ y severa mayor a 5 nidos en $5,5 \text{ mm}^2$

La extensión y severidad de la fibrosis parecen estar directamente relacionadas con la habilidad del útero de llevar una gestación hasta su término. Si el proceso de fibrosis es general o completo de la sección histológica, con cualquier grado de severidad, hay una reducción de la habilidad del útero de llevar a término la gestación.

3. Hipertrofia:

La primera respuesta a la fibrosis periglandular es usualmente la hipertrofia. La fibrosis es la causa más común de hipertrofia, pero también existen otras causas no conocidas (Kenny.1978).

4. Glándulas quísticas:

La distensión quística de las glándulas uterinas y sus ductos es común en la yegua. La distensión puede ocurrir por muchos mecanismos conocidos y muchos desconocidos.

Un mecanismo es por fibrosis periglandular debido al estrangulamiento, pero también puede ocurrir sin ninguna evidencia de fibrosis. Tal es el caso de la acumulación de secreciones uterinas que puede asociarse a tres eventos, período de atrofia uterina (asociada con anestro, atrofia miometrial o yeguas viejas que han tenido numerosos partos), falta de tono y peristaltismo del miometrio e hipertrofia epitelial (Kenney, 1978; Kenney y Doig, 1986).

En algunos casos las glándulas afectadas se distienden quísticamente; sin embargo, los restos de epitelio están más hipertrofiados que atrofiados. Al impedirse el flujo de la secreción, inicialmente se acumula fluido y el lumen aparece vacío. Con el tiempo el líquido es removido, dejando la materia seca acumulada como secreción espesa que es hialina o granular, como resultado de fibrosis las células epiteliales de glándulas que no son quísticas pueden llegar a sufrir cambios pleomórficos o atróficos y, en ocasiones, ambos tipos de cambios pueden ser observados en una misma glándula. La causa de este cambio se debe a la presión. El largo de la distensión quística puede alcanzar 1 mm. (Ricketts, 1975; Kenney, 1978).

5. Atrofia endometrial no estacional:

Generalmente la atrofia endometrial difusa, no relacionada a estación, ocurre menos frecuentemente que la de tipo estacional y se encuentra usualmente asociada con inactividad ovárica (Ricketts, 1975). Tal inactividad es observada en yeguas debilitadas, en aquellas con alteraciones cromosomales y es idiopático en algunas hembras viejas infértiles. Atrofia endometrial también puede ser observada en yeguas que ciclan normalmente durante la estación reproductiva (Kenney, 1978).

La atrofia endometrial focal es una causa común de repetición de celo en yeguas viejas multíparas, existiendo una falta de pliegues palpables e histológicamente un endometrio delgado, con glándulas esparcidas inactivas que a menudo contienen secreción espesa. Esta puede ser bilateral o unilateral y permitir una gestación a término dependiendo del lugar de implantación del cigoto y del tamaño del área atrofiada (Kenney, 1978).

6. Hipoplasia endometrial no estacional:

Se observa en potrancas post pubertad y en yeguas con alteraciones congénitas de inactividad ovárica, asociada con un tracto genital infantil o juvenil. En muchos casos presentan un ciclo estral errático y comportamiento anormal (Ricketts, 1975). Histopatológicamente, la lámina propia es delgada, con glándulas esparcidas e inactivas. La hipoplasia puede ser difícil de diferenciar histológicamente de la atrofia (Kenney, 1978).

7. Hiperplasia glandular:

Este término se refiere a un incremento en el número de células glandulares. Tal incremento puede aumentar la longitud y tortuosidad de los brazos glandulares o también incrementar el número de brazos. La hiperplasia normalmente ocurre en glándulas quísticas y yeguas preñadas. No hay evidencia de que la hiperplasia glandular ocurra en la yegua como un cambio patológico, representando probablemente un fenómeno normal. Una apariencia engañosa de la densidad glandular ocurre a menudo en secciones histológicas, como resultado de variados grados de edema y una lámina propia espesa (Kenney, 1978).

8. Neoplasia:

No existen documentos publicados que reporten neoplasias epiteliales en el útero de la yegua (Walter *et al.*, 2001), sólo se han descrito casos de leiomiomas (Ricketts, 1975) y un adenocarcinoma endometrial fue descrito por Chaffin *et al.* (1990) en una yegua árabe de 11 años.

9. Lagunas linfáticas:

Pueden ocurrir en la lámina propia del endometrio, entre las glándulas o en el centro del nacimiento de los pliegues de éstas, o bien, en el miometrio. Se generan producto de un mal drenaje de los vasos linfáticos. Éstos no presentan musculatura en su pared y dependen

de la contractibilidad de la musculatura lisa del miometrio para poder bombear la linfa, por lo que una baja contractibilidad de éste llevaría al estancamiento de la linfa y a la subsecuente formación de lagunas linfáticas (LeBlanc, 2004b). Histopatológicamente, se identifican como acúmulos de fluido rodeado de un margen discreto de células endoteliales, sin eritrocitos (Kenney, 1978).

10. Quistes no glandulares:

Es una de las anormalidades uterinas que pueden ser palpadas por vía rectal, pareciendo ser el extremo de una laguna linfática. La laguna comienza individualmente de tamaño microscópico pudiendo quedar en este estado. Sin embargo, pueden incrementar focalmente en número y tamaño, coalescer y producir pliegues pedunculados los que pueden llegar a formar quistes unilobulares o multilobulares sobre 15 cm de diámetro, aunque usualmente son de 3 cm. Las lagunas también pueden aumentar de tamaño difusamente y producir pliegues alargados, que pueden ser detectados por palpación rectal. Los quistes no glandulares pueden sospecharse a la palpación; su identificación puede ser confirmada por mayor pérdida de fluido al extraer la biopsia, mientras que histológicamente, la pared contiene glándulas comprimidas y atrofiadas (Kenney, 1978).

11. Vasos sanguíneos:

Vasos sanguíneos musculares no son comunes en el endometrio de la yegua, por lo tanto, los cambios patológicos de estos vasos son infrecuentes (Kenney, 1978).

IV. Ecografía uterina.

- **Principios básicos y técnica de ultrasonografía transrectal:**

La ultrasonografía transrectal se puede definir como una técnica no invasiva mediante la cual se tiene acceso visual a la anatomía interna de los órganos reproductivos y del embrión que pudiera contener (Ginther, 1986).

Utiliza los ecos de ondas sonoras para producir imágenes de tejidos blandos y órganos internos (Pierson *et al.*, 1988). Estas ondas, de alta frecuencia e inaudibles al oído humano, son producidas por la estimulación eléctrica de un cristal de turmalina que por su conformación molecular rígida, vibra al estímulo del impulso eléctrico. Dicho cristal, al vibrar produce las ondas que irán directo a los tejidos, siendo parte de ellas reflejadas al transductor que transformará la energía mecánica (ondas) en energía eléctrica (impulso eléctrico) y la corriente producida será desplegada a una pantalla como imagen en escala de grises (Squires *et al.*, 1983; Burns y Layton, 1986; Ginther, 1986; Squires *et al.*, 1988).

La imagen resultante en la pantalla, es rectangular y corresponde al largo de la porción activa del transductor. La imagen de los tejidos cercanos al transductor se observan en la parte superior de la pantalla. La sección es un plano sagital con respecto al cuerpo (Ginther, 1986).

Existen dos tipos de equipos ultrasónicos de tiempo real usados en reproducción equina: lineales y convexos. Esta designación se refiere a la forma en la cual las ondas son propagadas desde el transductor. En el lineal, el sonido es transmitido en plano lineal a través de todo el largo del transductor, mientras que el convexo envía sus ondas de sonido a una configuración en forma de triángulo de base convexa (Squires *et al.*, 1983; Ginther, 1986; Pierson *et al.*, 1988).

Con respecto a las imágenes que generan los distintos tipos de tejidos, se puede decir que los líquidos transparentes no reflejan ondas sonoras por lo que son no ecogénicos o

anecogénicos y aparecen de color negro en la pantalla (folículos, vesículas embrionarias, quistes endometriales, entre otros). Por el contrario, los tejidos densos reflejan la mayoría de las ondas sonoras por lo que son ecogénicos o hiperecogénicos y aparecen en la pantalla de color blanco (huesos fetales, cérvix bovino) (Pierson *et al.*, 1988).

Un hecho importante de destacar, es que la ecografía no afecta los índices reproductivos. Al respecto, Squires *et al.* (1983), observaron que la ecografía no altera la tasa de preñez de yeguas sometidas a esta técnica en comparación a las examinadas por palpación rectal. En el mismo sentido, Vogelsang *et al.* (1989) obtuvieron una tasa de preñez de un 76% y una tasa de muerte embrionaria de un 7,8% en yeguas sometidas en promedio a 9,9 exámenes ecográficos durante la temporada reproductiva, concluyendo que no existía efecto perjudicial a corto plazo y que el diagnóstico ultrasonográfico no dañaría el tejido reproductivo ni embrionario. Estudios realizados en humanos indican que la ecografía es un método seguro y que no afecta la tasa de preñez. Sin embargo, existe controversia al respecto, ya que otras investigaciones indican que este examen induciría a un bajo crecimiento fetal. No obstante, estudios posteriores indican que este crecimiento disminuido se compensa en la niñez (Newnham *et al.*, 1993; Kieler *et al.*, 1997; Newnham *et al.*, 2004)

El uso de la ecografía puede mejorar la fertilidad anual de las yeguas FSC en un 10 a 15%, con lo que se puede pretender la obtención de un 80% de potrillos nacidos vivos al año (Muñoz, 1995). Dicha mejora se debe a que con este método se detectan los celos más eficientemente, se evitan los abortos y partos gemelares, ya que es posible detectarlos tempranamente para luego eliminar manualmente una de las vesículas (Macpherson y Reimer, 2000) y en gran medida, se evitan también las reabsorciones embrionarias. Sin embargo, todas estas eventuales aplicaciones podrán lograrse siempre y cuando ésta técnica se aplique en forma sistemática una o dos veces por semana, considerando principalmente el estado clínico genital previo a la temporada de montas (Muñoz, 1995)

- **Evaluación del útero:**

En la evaluación ultrasonográfica del cuerpo del útero y el cérvix se realiza en cortes sagitales, mientras que los cuernos uterinos se visualizan en planos transversales (Ginther y Pierson, 1983). El examinador debe recorrer los cuernos un par de veces, desde la unión útero tubárica izquierda a la derecha, pasando por el cuerpo del útero (Ginther, 1986).

La ecoestructura y, por lo tanto, la anatomía ultrasonográfica de los órganos genitales, varía dependiendo del estatus reproductivo de la yegua; es decir, depende de si la yegua se encuentra en estro, diestro, preñez o anestro (Pierson *et al.*, 1988). De esta forma, en diestro el útero se observa ecogénico y su contorno está bien demarcado con dos zonas, una periférica homogénea, correspondiente al miometrio y otra central más heterogénea y oscura, que corresponde a los pliegues del endometrio difíciles de distinguir en esta etapa (Ginther, 1986; Squires *et al.*, 1988). Una línea blanca en el lumen es frecuentemente observada en vistas longitudinales del cuerpo uterino y ha sido atribuida a la oposición de los pliegues longitudinales en el lumen (Adams, 1992).

Por otro lado, durante el estro se observa una imagen uterina más oscura y menos amplia. Los cambios más notorios durante el estro se atribuyen al desarrollo de edema y acentuación de los pliegues endometriales individuales, dando una imagen de áreas negras alternadas con blancas. Las áreas blancas (ecoicas) son atribuidas al tejido denso de la porción interna de los pliegues endometriales, los que al corte transversal de la imagen se ven irradiados hacia adentro y están separados por las áreas menos ecoicas que corresponden a los márgenes edematosos de los pliegues y al fluido estral libre (Ginther y Pierson, 1983; Ginther, 1986; Squires *et al.*, 1988). Así, es posible determinar exactamente cuando una yegua se encuentra en celo por las características del endometrio, en el cual se observan zonas de secreción convergentes hacia el centro que asemejan a un “limón cortado” o “rueda de carreta” (Ginther, 1986; Muñoz, 1995).

Los quistes endometriales, comunes en yeguas de avanzada edad, son visualizados como formaciones que contienen líquido o material semisólido que se proyectan en la

superficie del endometrio. Aparentemente se forman a partir de canales linfáticos obstruidos. A la imagen ecográfica son estructuras no ecoicas con un diámetro variable (Squires *et al.*, 1988; Wilson, 1985).

Otro tipo de alteración uterina visualizable mediante esta tecnología, es el acumulo de fluido intraluminal, el que puede observarse desde una pequeña cantidad hasta grandes acumulaciones con contenido purulento (píometra), en este último se observan imágenes intercaladas entre hipoeicoicas e hipereicoicas en el lumen uterino. También mediante la ecografía pueden ser observados los restos fetales, como la presencia de huesos en el lumen uterino, los cuales, por su naturaleza densa, a la imagen ecográfica se observan como un artefacto, en que solo la superficie externa puede ser observada, seguida con sombras posteriores (Ginther, 1986).

En conclusión, la importancia de la tecnología de ultrasonido en ginecología y obstetricia veterinaria está llamada a ser, tanto o más importante, como lo es en la ginecología y obstetricia humana (Palmer y Driancourt, 1980; Ginther, 1986). En este contexto, la ecografía tiene un profundo potencial para modificar la aproximación clínica al tracto reproductivo de la yegua y es reconocida como un avance revolucionario en la práctica de yeguas de cría. En este contexto, es de gran utilidad en el diagnóstico temprano de preñez, detección de gemelos y documentación fotográfica de la gestación (Ginther y Pierson, 1983; Adams, 1992). Los ecógrafos son de tal importancia para el examen del tracto reproductivo, como los equipos de rayos X lo son para el de los huesos en los miembros (Ginther y Pierson, 1983). Los resultados demuestran que la tecnología ultrasónica proporciona una forma no invasiva de acceso al útero para evaluar normalidad, cambios morfológicos y, además, para detectar y estudiar procesos patológicos (Ginther y Pierson, 1984).

En base a todas estas ventajas, el presente estudio pretende determinar si la técnica ecográfica puede ser una buena alternativa para el diagnóstico presuntivo de las alteraciones patológicas de inflamación y fibrosis uterina las cuales son diagnosticadas en la actualidad preferentemente por el análisis histopatológico de las muestras de biopsias.

OBJETIVO GENERAL

Asociar los hallazgos ecográficos con los histopatológicos encontrados en útero de yeguas FSC.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar los hallazgos ecográficos e histopatológicos de úteros de yeguas FSC afectados por inflamación y/o fibrosis uterina.
- Comparar biopsias de áreas ecográficas normales y alteradas de úteros afectados por inflamación y/o fibrosis uterina.
- Establecer el grado de asociación que existe entre el examen ecográfico e histopatológico de inflamación y fibrosis uterina en yegua FSC.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en haras de yeguas FSC ubicados en la VII y VIII Región, durante la temporada comprendida de abril a junio de 2004 y febrero a marzo de 2005.

Se utilizó un total de 36 yeguas FSC de cinco a dieciocho años de edad. Del total, 17 presentaban al examen ecográfico fibrosis endometrial (grupo fibrosis), 5 presentaban inflamación endometrial (grupo inflamación) y las restantes 14 correspondieron a un grupo control sano en que al estudio ecográfico no presentaron dichas anormalidades; es decir, no se observó ni inflamación ni fibrosis uterina.

Todas las yeguas fueron sometidas a un examen clínico ginecológico por tacto rectal, seguido por un examen ecográfico con el objetivo de identificar las características relevantes presentes en endometrio. Posteriormente, se procedió a tomar dos biopsias en las yeguas que presentaron algún tipo de alteración a la imagen ecográfica (grupo fibrosis y grupo inflamación) y una biopsia a las yeguas que no presentaron alteraciones a la ecografía (grupo control sano).

Para llevar a cabo cualquiera de estas técnicas fue necesario la utilización de métodos coercitivos tales como, el uso de bretes, trabas de sujeción y aplicación de “puro”. Además, se requirieron dos ayudantes, uno para levantar la cola y otro para afirmar al animal por la jáquima. Una vez que la yegua se encontró adecuadamente inmovilizada, se procedió a realizar el examen ecográfico.

Para realizar la técnica ecográfica se utilizó un ecógrafo¹ de imagen lineal y tiempo real que posee un transductor de 5 – 7,5 Mhz y que se acopló a una impresora², con la cual fueron impresas las imágenes. Para la utilización del transductor este se forró con una manga de plástico a la cual previamente se le adicionó gel para ecografías. El transductor fue introducido vía rectal, previa evacuación de las heces desde el recto, y se realizó el examen por deslizamiento.

¹ Pie Medical® 480. USA.

² Sony® UP870MD. Japón.

Mediante la imagen ecográfica se evaluó el cuerno derecho, cuerno izquierdo y cuerpo uterino para determinar la presencia de inflamación uterina, fibrosis u otros hallazgos de interés, los cuales fueron anotados en la ficha de ecografía (Anexo 1). De este modo, la inflamación se determinó por la presencia de un engrosamiento de la pared uterina ($>$ a 32 mm) y/o por la presencia de líquido en el lumen uterino, mientras que la fibrosis se determinó por la presencia de áreas hiperecoicas en la imagen ecográfica del endometrio. Todas estas imágenes fueron impresas.

Mediante este examen se estableció el sitio de extracción de las biopsias endometriales, las cuales se realizaron según el siguiente esquema:

- En las yeguas en que se detectaron anomalías en alguno de los tres sitios examinados por ecografía se tomaron dos biopsias, una de la región con alteración y otra de una zona en que a la imagen ecográfica no se observaron alteraciones, con el fin de tener un área control dentro del mismo útero alterado.

- En las yeguas que no presentaron anomalías endometriales, se tomó sólo una muestra en la unión del cuerno con el cuerpo uterino, debido a que éste es el sitio de implantación del cigoto (Ricketts, 1975; Kenney, 1978, Van Camp, 1993). Para estandarizar la toma de muestras, se escogió el cuerno izquierdo en todas las yeguas de este grupo (grupo control sano).

Para la obtención de la biopsia uterina se utilizó una pinza³ especial para biopsia uterina en equinos, de un largo de 51 cm y con una superficie de extracción de 20 mm por 5 mm (Figura 3).

³ Hauptner® Alemania.



FIGURA 3. Pinza Hauptner®, especial para biopsia uterina en equinos.

Con la yegua ya inmovilizada en una manga o con trabas, un ayudante sostuvo la cola de ésta para evitar el contacto del pelo con la zona perineal. Posteriormente, esta zona se lavó con solución desinfectante y se secó con toalla desechable, con el objetivo de impedir la introducción de gérmenes o material extraño a la porción anterior del tracto reproductivo.

Por su parte, el clínico utilizó una manga plástica desechable, la cual se desinfectó con antisépticos comunes. En primera instancia, se realizó una palpación vaginal con el objeto de encontrar eventuales adherencias, laceraciones, desgarros u otras alteraciones. Además, mediante esta maniobra se consiguió dilatar el conducto cervical para luego pasar libremente la pinza de biopsia. Posteriormente, se retiró la mano de la vagina para poner la pinza sobre la palma cubriendo totalmente el extremo de la superficie de extracción, se separaron los labios vulvares de la yegua para luego introducir nuevamente la mano con la pinza, ubicando con el dedo índice la abertura cervical se dirigió el instrumento a través del cérvix en dirección al lumen uterino. Una vez ubicada la pinza en el lumen uterino, se retiró la mano de la vagina y se introdujo por el recto para así guiar y ubicar la pinza en el sitio deseado.

En el momento de extracción de la muestra se giró la pinza en 90 grados, se colocó la mucosa uterina en la abertura de ésta y se oprimió fuertemente. Con ésta operación se evita correr el riesgo de penetrar enteramente la pared uterina. Luego, se retiró la pinza y una vez fuera del tracto genital se extrajo el trozo de tejido con una aguja hipodérmica y se depositó en un tubo con líquido fijador (formalina tamponada al 10%) (Figura 4). Cada tubo fue debidamente identificado con el nombre de la yegua, la fecha y el sitio de

extracción de la biopsia. Para repetir la técnica en distintos animales, la pinza se lavó con agua corriente, se desinfectó y se esterilizó por flameo.



FIGURA 4. Muestra de endometrio uterino obtenida con la pinza especial para biopsia

Las muestras fueron analizadas en el departamento de Patología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. En este lugar cada muestra fue identificada y montada sobre canastillos para ser introducidas en un procesador de tejidos⁴, en donde fueron deshidratadas y aclaradas. Posteriormente, fueron sometidas a estándar de inclusión en bloques de parafina con el objetivo de poder llevarlas a un micrótopo rotatorio⁵, para obtener tres cortes por muestra de un grosor de 4 μm . Una vez obtenidos los cortes, éstos se depositaron sobre portaobjetos de vidrio untados con albúmina. Finalmente, los cortes fueron teñidos con:

- Hematoxilina-Eosina: para apreciar la morfología general del núcleo y citoplasma celular.

- Van Gieson: para el estudio de colágeno y fibras musculares.

- Masson: para el estudio colágeno.

⁴ Shandon® Citadel 2000 Inglaterra.

⁵ Minot Leitz® (Wetzlar) Alemania.

Para visualizar las fibras colágenas, la tinción utilizada en un principio fue Van Gieson, pero esta presentó el inconveniente de que las fibras colágenas y musculares no pudieron ser bien diferenciadas, ya que las fibras colágenas se tiñeron de color rojo muy similar al rojizo que adquieren las fibras musculares. Debido a esto, se optó por la técnica de Masson, con la cual las fibras colágenas se tiñen de color azul y son bien diferenciadas de las fibras musculares teñidas de color rojo oscuro (Figura 5).

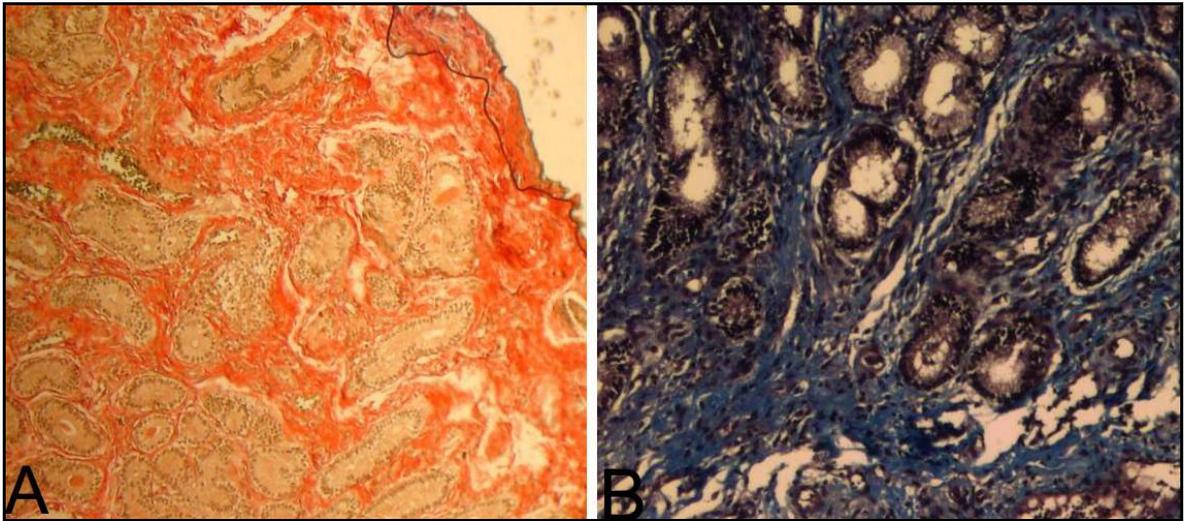


FIGURA 5. A: Sección de endometrio equino con presencia de fibrosis moderada visualizado con tinción de Van Gieson a 100X, se observan las fibras colágenas de color rojo. **B:** La misma muestra con tinción de Masson a 100X, se observan las fibras colágenas de color azul.

A continuación, los cortes fueron observados bajo microscopio por un solo evaluador, el cual no tuvo conocimiento de la categoría ecográfica de cada muestra y se aplicó la clasificación histopatológica de biopsia de Kenney y Doig de 1986 (Anexo 2), la cual presenta categorías para los distintos grados de fibrosis e inflamación. Esta clasificación reviste carácter pronóstico, ya que relaciona cada categoría con un índice determinado de preñez (ver categorías en revisión bibliográfica).

El examen histopatológico se realizó en forma metódica, evaluando epitelio luminal, estrato compacto (EC), estrato esponjoso (EE), glándulas y vasos sanguíneos.

Para describir y clasificar los cambios inflamatorios presentes en las distintas muestras, se hizo la clasificación según:

- Distribución de la lesión (extensión): definida como uniforme o dispersa, entendiéndose por dispersas a aquellas lesiones difusas y dispuestas en forma irregular en el estroma uterino, y uniformes cuando las lesiones son numerosas y aparecen por toda la sección histológica.

- Distribución de la lesión (frecuencia): clasificadas como frecuente, moderadamente frecuente, escasos e infrecuente. Ésta es una variación de la clasificación original de Kenney y Doig (1986), ya que presenta cuatro categorías en vez de tres, con el objeto de tener una mejor diferenciación entre los diferentes grados de compromiso del tejido.

- Severidad de la lesión: Ésta se mide según el tamaño del foco celular, catalogando como lesión pequeña a las acumulaciones celulares menores a 120 μm , moderada aquella entre 120 y 300 μm y grande mayor a 300 μm .

- Características del foco: clasificados como discreto o difuso. Acumulaciones discretas son aquellas que están bastante definidas, delineadas y localizadas, las difusas son aquellas esparcidas por la muestra.

- Célula predominante: se describen dos tipos de endometritis según el tipo de célula predominante: endometritis aguda y endometritis crónica. La primera se caracteriza por la presencia de PMN, principalmente, mientras que la segunda se caracteriza por una infiltración de linfocitos u otro tipo de células plasmáticas.

Para describir y cuantificar los cambios fibróticos presentes en cada muestra, las categorías de distribución de la lesión (extensión y frecuencia) fueron las mismas descritas para inflamación. La severidad fue diagnosticada según el número de capas de fibrosis alrededor de los conductos glandulares. Un número de 1 a 3 capas de colágeno se consideró como leve, de 4 a 10 capas de fibrosis se designó como moderada y un número

superior a 10 capas de tejido conectivo fue descrito como severa. Además, la severidad fue analizada por el número de focos o nidos fibróticos promedio en cuatro campos, así un promedio de menos de 3 nidos se cataloga como leve y un promedio mayor a 5 se individualiza como severa.

Posteriormente, para comparar biopsias de áreas ecográficas normales y alteradas de úteros afectados por inflamación o fibrosis uterina (grupo inflamación y grupo fibrosis) se realizaron tablas de distribución de frecuencias en base a los datos obtenidos mediante ecografía y examen histopatológico (parámetros evaluados).

Para determinar la asociación entre el diagnóstico ecográfico y el histopatológico, se utilizó la prueba de hipótesis de independencia de Chi cuadrado. Además, se utilizó la prueba de Fisher en la cual un valor de $P \leq 0,05$ fue considerado significativo.

Finalmente, para tener una evaluación más precisa de la fibrosis endometrial presente en cada muestra, se utilizó un programa computacional de morfometría⁶, con el cual se midió el área de colágeno en μm^2 presente en 5 campos de cada muestra. Éstos fueron observados bajo microscopio con un aumento de 100X para luego sacar un promedio y su respectivo porcentaje. Posteriormente, estos porcentajes fueron comparados mediante un análisis de varianza, con el fin de determinar si existían diferencias significativas entre las tres tipificaciones ecográficas (grupo fibrosis, grupo control sano y grupo inflamación).

⁶ Image Pro Plus ®

RESULTADOS

El diagnóstico ecográfico de las yeguas con inflamación uterina (grupo inflamación) se realizó por medio de dos parámetros, presencia de líquido en el lumen uterino y/o aumento del grosor de la pared uterina (> 32 mm). La presencia de líquido, quedó representada por una imagen ecográfica hipoecoica o anecoica en el lumen uterino (Figura 6). De las 36 yeguas en estudio, cinco de ellas presentaron al examen ecográfico inflamación uterina constituyendo el grupo inflamación. De estas cinco, tres presentaron ambos hallazgos; es decir, engrosamiento de la pared uterina y presencia de líquido en su lumen y las otras dos sólo presentaron engrosamiento de la pared uterina. Por otro lado, al examen histopatológico de biopsias endometriales, la presencia de PMN, linfocitos u otro tipo de células (plasmocitos, eosinófilos) fue indicativa de inflamación endometrial, catalogándose como endometritis aguda aquella muestra que principalmente presentó PMN y endometritis crónica aquella en donde los linfocitos u otro tipo de células plasmáticas fueron los predominantes (Figura 7). De las cinco yeguas del grupo inflamación, cuatro presentaron linfocitos y PMN como células predominantes, mientras que en la yegua restante sólo se observó la presencia predominante de linfocitos.

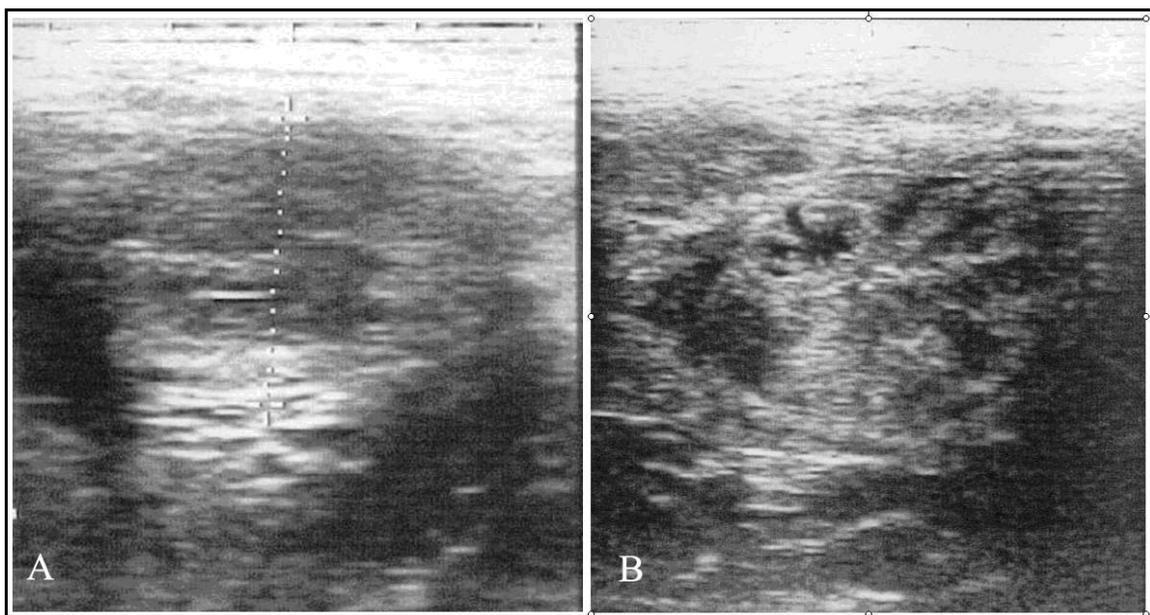


FIGURA 6. A: Imagen ecográfica de cuerno uterino normal. **B:** Imagen ecográfica de cuerno uterino con presencia de líquido en lumen.

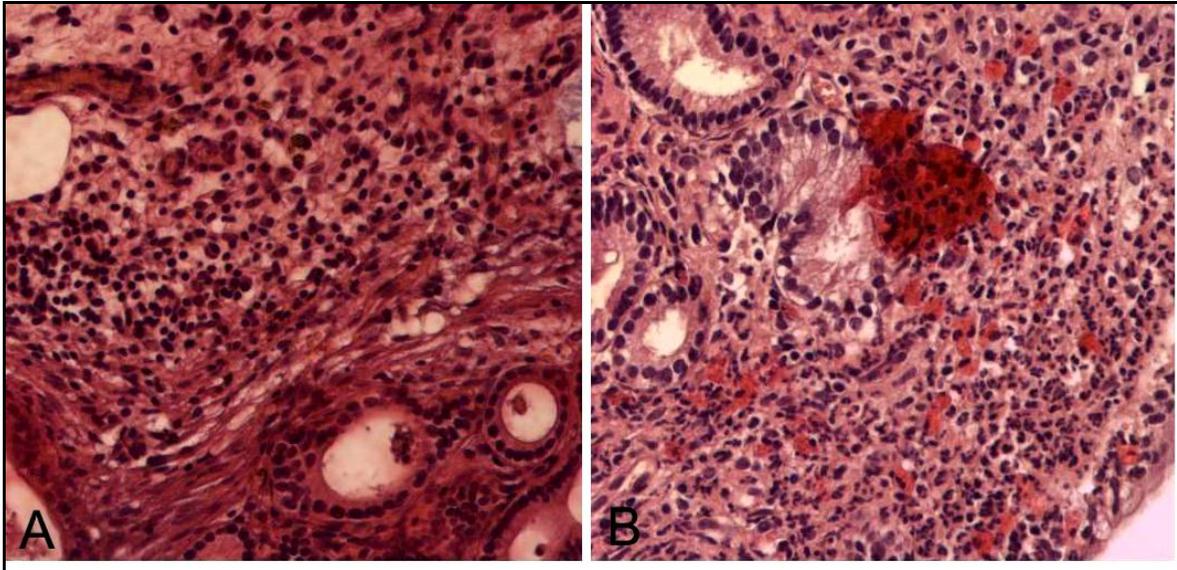


FIGURA 7. A: Inflamación crónica, sección de endometrio equino con tinción de Hematoxilina-Eosina a 200X, se observa gran acumulación de linfocitos. **B: Inflamación aguda**, sección de endometrio equino con tinción de Hematoxilina-Eosina a 200X, se observa gran cantidad de PMN.

También se observó la presencia de lagunas linfáticas y glándulas quísticas, las primeras se encontraron presentes en tres de las cinco yeguas del grupo inflamación, mientras que las glándulas quísticas se encontraron en la totalidad de las muestras, de las cuales tres se distribuyeron focalmente, una en forma diseminada y una en forma multifocal. Esto contrastó con las muestras del grupo control sano en que sólo dos de 14 presentaron lagunas linfáticas y una presentó glándulas quísticas en forma focal.

Por otro lado, el diagnóstico ecográfico de las yeguas del grupo fibrosis se caracterizó por la visualización de una imagen altamente ecoica presente en el área endometrial del útero (Figura 8). A su vez, el diagnóstico histopatológico de esta alteración, se llevó a cabo por la visualización de fibras colágenas teñidas de color azul con la tinción de Masson (Figura 9). Éstas se distribuyeron alrededor de las glándulas, formando nidos y dispersas en el estroma. La severidad de la lesión se determinó considerando el número de capas de fibrosis alrededor de los conductos glandulares y número de focos o nidos fibróticos por campo. También se evaluó la presencia de lagunas linfáticas las cuales se encontraron en ocho de 17 muestras. En 16 de las 17 muestras se

encontraron glándulas quísticas, con una distribución de 10 focales, dos diseminadas, una focal diseminada y tres multifocales.

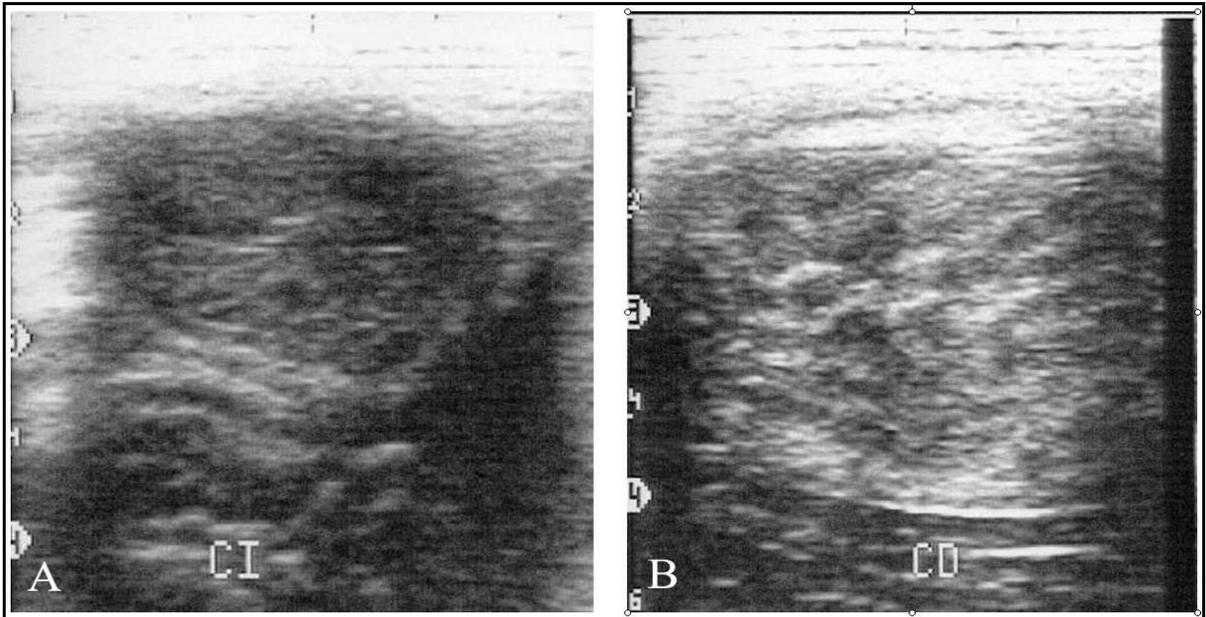


FIGURA 8. A: Imagen ecográfica de cuerno izquierdo sin fibrosis uterina. B: Imagen ecográfica de cuerno derecho con fibrosis endometrial, se observa una imagen altamente ecoica en endometrio.

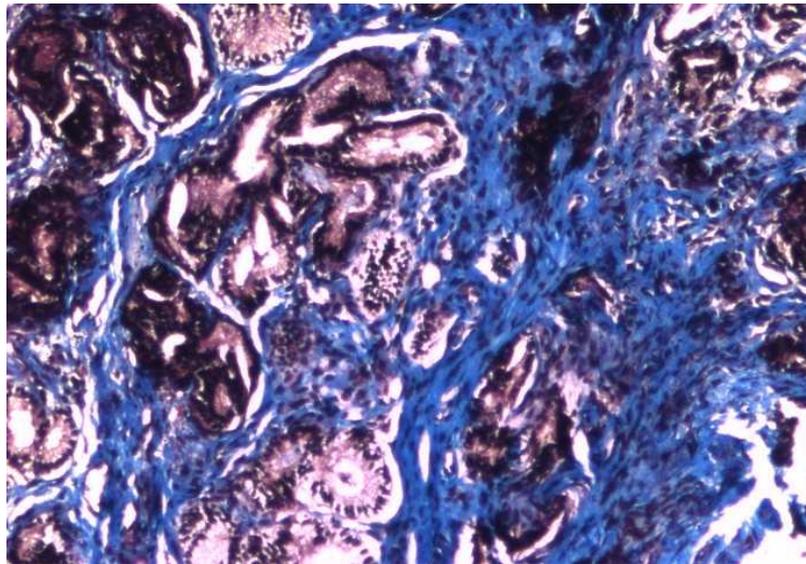


FIGURA 9. Sección de endometrio equino con presencia de fibrosis moderada con tinción de Masson a 100X, se observan las fibras colágenas de color azul.

A su vez, para comparar las biopsias de áreas ecográficas normales y alteradas de úteros de yeguas del grupo inflamación se realizaron tablas de distribución de frecuencias. Es así como, al analizar la clasificación histopatológica de biopsias de Kenney y Doig (1986), las zonas uterinas alteradas de las 5 yeguas de este grupo pertenecieron a la categoría IIB, mientras que con respecto a las biopsias de las zonas uterinas normales, una se enmarcó en la categoría I, tres en la categoría IIA, y una en la categoría III (Tabla 1).

TABLA 1. Frecuencias de la clasificación histológica de biopsia para zonas inflamadas y normales en úteros del grupo inflamación.

<i>CLASIFICACIÓN BIOPSIA</i>	<i>ZONA ALTERADA</i>	<i>ZONA NORMAL</i>
I	0	1
IIA	0	3
IIB	5	0
III	0	1
Total	5	5

Con respecto a la distribución de la lesión, en relación a la extensión de ésta, las cinco zonas alteradas biopsiadas se presentaron como una lesión dispersa; es decir, la presencia de células inflamatorias estuvo diseminada en la muestra, mientras que cuatro de las zonas normales estuvieron en esta misma categoría y sólo una presentó una distribución uniforme (Tabla 2). Por otro lado, con respecto a la frecuencia de las zonas con alteración, una se encontró en la categoría frecuente, es decir, presentó una alta cantidad de células inflamatorias, tres en moderadamente frecuente y una en escasas. Con respecto a las zonas normales a la ecografía, una se encontró en la categoría frecuente, dos en moderadamente frecuente y las otras dos presentaron escasa presencias de éstas células (Tabla 3).

TABLA 2. Frecuencias de la distribución de la lesión (extensión) para zonas inflamadas y normales en úteros del grupo inflamación.

<i>DISTRIBUCIÓN DE LA LESIÓN (extensión)</i>	<i>ZONA ALTERADA</i>	<i>ZONA NORMAL</i>
Uniforme	0	1
Dispersa	5	4
Total	5	5

TABLA 3. Distribución de la lesión (frecuencia) para zonas inflamadas y normales en úteros del grupo inflamación.

<i>DISTRIBUCIÓN DE LA LESIÓN (frecuencia)</i>	<i>ZONA ALTERADA</i>	<i>ZONA NORMAL</i>
Frecuente	1	1
Mod. Frecuente	3	2
Escasos	1	2
Infrecuente	0	0
Total	5	5

En cuanto a la severidad de la lesión, tanto las zonas normales como las alteradas presentaron cuatro casos en categoría pequeña, es decir, el tamaño del acúmulo celular fue menor a 120 μm y sólo un caso en la categoría moderada (120-300 μm) (Tabla 4).

TABLA 4. Frecuencias de la severidad de la lesión para zonas inflamadas y normales en úteros del grupo inflamación.

<i>SEVERIDAD DE LA LESIÓN</i>	<i>ZONA ALTERADA</i>	<i>ZONA NORMAL</i>
Pequeña	4	4
Moderada	1	1
Grande	0	0
Total	5	5

Con respecto a las características del foco inflamatorio, las muestras de zonas alteradas presentaron un caso en categoría discretos; es decir, con un acúmulo celular definido y cuatro en categoría difusos. Todas las muestras de las zonas normales presentaron focos difusos (Tabla 5).

TABLA 5. Frecuencias de las distintas características del foco inflamatorio para zonas inflamadas y normales en úteros del grupo inflamación.

<i>CARACTERÍSTICAS DEL FOCO</i>	<i>ZONA ALTERADA</i>	<i>ZONA NORMAL</i>
Discreto	1	0
Difuso	4	5
Total	5	5

Para finalizar el análisis de frecuencias de diferentes parámetros evaluados en biopsias de distintas zonas de úteros del grupo inflamación, se observó que en las zonas alteradas todas las muestras presentaron linfocitos y en cuatro de ellas además se observaron PMN como células predominantes. En relación a las muestras de zonas sin alteración a la ecografía dos casos presentaron linfocitos y PMN, dos casos presentaron sólo linfocitos y un caso no presentó ningún tipo de célula inflamatoria (Tabla 6).

TABLA 6. Frecuencias de célula predominante de la lesión para zonas inflamadas y normales en úteros del grupo inflamación.

<i>CÉLULA INFLAMATORIA PREDOMINANTE</i>	<i>ZONA ALTERADA</i>	<i>ZONA NORMAL</i>
linfocitos	5	4
PMN	4	2

Posteriormente, se compararon las biopsias de áreas ecográficas normales y alteradas de úteros de yeguas del grupo fibrosis, de la misma manera como se procedió con las muestras del grupo inflamación; es decir, también se realizaron tablas de distribución de frecuencias. Del total de yeguas del grupo fibrosis (17), cuatro presentaron un útero completamente hiperecoico a la imagen ecográfica por lo que no fue posible tomar una segunda biopsia correspondiente a una zona normal o no alterada.

Con respecto a la clasificación histopatológica de biopsias de Kenney y Doig (1986), las zonas uterinas alteradas se distribuyeron con seis muestras en la categoría IIB, y siete en la categoría III, mientras que con respecto a las biopsias de las zonas uterinas normales, una se enmarcó en la categoría IIA, nueve en la categoría IIB y tres en la categoría III (Tabla 7).

TABLA 7. Frecuencias de la clasificación histológica de biopsia para zonas fibróticas y normales en úteros del grupo fibrosis.

<i>CLASIFICACIÓN</i>	<i>ZONA ALTERADA</i>	<i>ZONA NORMAL</i>
<i>BIOPSIA</i>		
I	0	0
IIA	0	1
IIB	6	9
III	7	3
total	13	13

Con respecto a la distribución de la lesión en relación a la extensión de ésta, de las zonas biopsiadas alteradas nueve fueron uniformes y cuatro se presentaron dispersas, mientras que seis de las zonas normales fueron uniformes y siete dispersas (Tabla 8). Por otro lado, con respecto a la frecuencia de las zonas con alteración, cinco se encontraron en la categoría frecuente y ocho en moderadamente frecuente. De las zonas normales a la ecografía tres se distribuyeron en la categoría frecuente, una en moderadamente frecuente y las otras nueve presentaron lesiones fibróticas en escasa cantidad (Tabla 9).

TABLA 8. Frecuencias de la distribución de la lesión (extensión) para zonas fibróticas y normales en úteros del grupo fibrosis.

<i>DISTRIBUCIÓN DE LA LESIÓN (extensión)</i>	<i>ZONA ALTERADA</i>	<i>ZONA NORMAL</i>
Uniforme	9	6
Dispersa	4	7
Total	13	13

TABLA 9. Distribución de la lesión (frecuencia) para zonas fibróticas y normales en úteros del grupo fibrosis.

<i>DISTRIBUCIÓN DE LA LESIÓN (frecuencia)</i>	<i>ZONA ALTERADA</i>	<i>ZONA NORMAL</i>
Frecuente	5	3
Mod. Frecuente	8	1
Escasos	0	9
Infrecuente	0	0
Total	13	13

En cuanto al número de capas de fibrosis alrededor de las glándulas, para las muestras de zonas con alteración se observaron seis muestras en la categoría leve (1-3 capas), cinco en categoría moderada (4-9 capas) y dos en categoría severa (+ de 10 capas), en cambio en las muestras de las áreas normales nueve se enmarcaron en la categoría leve, tres en la categoría moderada y una en severa (Tabla 10).

TABLA 10. Frecuencias de la severidad de la fibrosis (capas alrededor de la glándulas) para zonas fibróticas y normales en úteros del grupo fibrosis.

<i>SEVERIDAD (capas de fibrosis alrededor de gl)</i>	<i>ZONA ALTERADA</i>	<i>ZONA NORMAL</i>
Leve	6	9
Moderada	5	3
Severa	2	1
Total	13	13

Finalmente, con respecto número de focos o nidos fibróticos promedio en cuatro campos, presentes en las muestras de las zonas alteradas, se observó que cuatro pertenecieron a la categoría leve (1-3 focos) y nueve a la categoría severa (+ de 5), mientras que para las muestras de las áreas normales, la distribución fue de seis en la categoría leve y siete en la categoría severa (Tabla 11).

TABLA 11. Frecuencias de la severidad de la fibrosis (focos por campo) para zonas fibróticas y normales en úteros del grupo fibrosis.

<i>SEVERIDAD (focos de fibrosis por campo)</i>	<i>ZONA ALTERADA</i>	<i>ZONA NORMAL</i>
Leve	4	6
Severo	9	7
Total	13	13

Una vez realizada la comparación de biopsias de áreas ecográficas normales con áreas alteradas pertenecientes a úteros de los grupos inflamación y fibrosis, se procedió a establecer el grado de asociación entre el examen ecográfico e histopatológico de estas dos alteraciones. Se realizaron tablas de distribución de frecuencias para comparar los casos del grupo inflamación con los casos del grupo control sano definidos por la técnica

ecográfica, en relación a los parámetros estudiados para la clasificación histopatológica de las biopsias.

En la Tabla 12, se evidencia que al analizar histopatológicamente los casos del grupo inflamación, la totalidad de ellos se ubican dentro de la categoría IIB de la clasificación histopatológica de biopsias de Kenney y Doig (1986), mientras que al estudiar los 14 casos del grupo control sano, siete de ellos pertenecieron a la categoría I y los otros siete a la categoría IIA.

TABLA 12. Distribución de los casos del grupo inflamación y grupo control sano con respecto a la clasificación de las biopsias.

<i>CLASIFICACIÓN BIOPSIA</i>	<i>GRUPO INFLAMACIÓN</i>	<i>GRUPO CONTROL SANO</i>
I	0	7
IIA	0	7
IIB	5	0
III	0	0
Total	5	14

En la Tabla 13, se observa la distribución de los casos del grupo inflamación en relación a la extensión de la lesión encontrada al análisis histopatológico. De acuerdo a esto, el total de los casos presentó una extensión dispersa. En cuanto al grupo control sano, la mayoría presentó una extensión dispersa (13 casos) y sólo uno se distribuyó de manera uniforme. Por otro lado, en la Tabla 14 se visualiza la distribución de los casos del grupo inflamación en relación a la frecuencia de la lesión encontrada al análisis histopatológico, observándose tres casos en la categoría moderadamente frecuente, un caso en la categoría frecuente y un caso en la categoría escasos. En relación al grupo control sano, la distribución mostró nueve casos en la categoría moderadamente frecuente y cinco casos dentro de la categoría escasos.

TABLA 13. Distribución de los casos del grupo inflamación y grupo control sano con respecto a la distribución de la lesión (extensión) encontrada histopatológicamente.

<i>DISTRIBUCIÓN DE LA LESIÓN (extensión)</i>	<i>GRUPO INFLAMACIÓN</i>	<i>GRUPO CONTROL SANO</i>
Uniforme	0	1
Dispersa	5	13
Total	5	14

TABLA 14. Distribución de los casos del grupo inflamación y grupo control sano con respecto a la distribución de la lesión (frecuencia) encontrada histopatológicamente.

<i>DISTRIBUCIÓN DE LA LESIÓN (frecuencia)</i>	<i>GRUPO INFLAMACIÓN</i>	<i>GRUPO CONTROL SANO</i>
Frecuente	1	0
Moderadamente frec	3	9
Escasos	1	5
Infrecuente	0	0
Total	5	14

La distribución de los casos del grupo inflamación con respecto a la severidad de la lesión diagnosticada por examen histopatológico se evidencia en la Tabla 15. Se observa que cuatro casos presentaron severidad pequeña; es decir, el tamaño de la lesión fue menor a 120 μm y sólo uno presentó severidad moderada, es decir, entre 120 y 300 μm . En lo que respecta al grupo control sano, 13 de los casos se enmarcaron en la categoría pequeña y un caso evidenció muy baja presencia de células inflamatorias por lo que no se enmarcó en ninguna categoría.

TABLA 15. Distribución de los casos del grupo inflamación y grupo control sano con respecto a la severidad de la lesión encontrada histopatológicamente.

<i>SEVERIDAD</i>	<i>GRUPO INFLAMACIÓN</i>	<i>GRUPO CONTROL SANO</i>
Pequeña	4	13
Moderada	1	0
Grande	0	0
Total	5	13

En la Tabla 16, se observa la distribución de los casos del grupo inflamación con respecto a las características histopatológicas del foco inflamatorio. De esta forma, cuatro casos se clasificaron como difusos y uno se clasificó en la categoría discreto. En la misma tabla los casos del grupo control sano estuvieron distribuidos en su mayoría (13) en la categoría difuso y uno presentó escasísimas células inflamatorias por lo que se no se enmarcó en ninguna categoría.

TABLA 16. Distribución de los casos del grupo inflamación y grupo control sano con respecto a las características del foco inflamatorio encontrado histopatológicamente

<i>CARACTERÍSTIC AS DEL FOCO</i>	<i>GRUPO INFLAMACIÓN</i>	<i>GRUPO CONTROL SANO</i>
Discreto	1	0
Difuso	4	13
Total	5	14

Con respecto a la célula inflamatoria predominante en las muestras del grupo inflamación, todos los casos presentaron linfocitos y en cuatro casos también se encontraron PMN en número importante. Al analizar los casos del grupo control sano, la totalidad de éstos presentaron linfocitos, mientras que sólo tres casos también presentaron PMN (Tabla 17).

TABLA 17. Distribución de los casos del grupo inflamación y del grupo control sano con respecto a la célula inflamatoria predominante encontrada histopatológicamente.

<i>CÉLULA INFLAMATORIA PREDOMINANTE</i>	<i>GRUPO INFLAMACIÓN</i>	<i>GRUPO CONTROL SANO</i>
Linfocitos	5	14
PMN	4	3

Posteriormente, se procedió a establecer la asociación para fibrosis entre el examen ecográfico e histopatológico, mediante tablas de distribución de frecuencias que compararon los casos del grupo fibrosis con los casos del grupo control sano definidos por la técnica ecográfica, en relación a los parámetros estudiados para la clasificación histopatológica de las biopsias.

La Tabla 18, muestra la distribución de los casos del grupo fibrosis con respecto a la clasificación histopatológica de Kenney y Doig (1986), observándose que seis de los 17 casos se encontraron en la categoría IIB y los 11 restantes se ubicaron en la categoría III. En relación a la distribución de los casos del grupo control sano, siete de ellos se enmarcaron en la categoría I y siete en la categoría IIA.

TABLA 18. Distribución de los casos del grupo fibrosis y grupo control sano con respecto a la clasificación de las biopsias.

<i>CLASIFICACIÓN BIOPSIA</i>	<i>GRUPO FIBROSIS</i>	<i>GRUPO CONTROL SANO</i>
I	0	7
IIA	0	7
IIB	6	0
III	11	0
Total	17	14

Con respecto a la extensión de la lesión, las muestras del grupo fibrosis se distribuyeron con 15 casos en la categoría uniforme y dos en la categoría dispersa. Por el contrario, los casos del grupo control sano se clasificaron en su totalidad en la categoría dispersa (Tabla 19).

TABLA 19. Distribución de los casos del grupo fibrosis y grupo control sano con respecto a la distribución de la fibrosis (extensión) encontrada histopatológicamente.

<i>DISTRIBUCIÓN DE LA LESIÓN (extensión)</i>	<i>GRUPO FIBROSIS</i>	<i>GRUPO CONTROL SANO</i>
Uniforme	15	0
Dispersa	2	14
Total	17	14

Con respecto a la distribución de la lesión (frecuencia) de los casos del grupo fibrosis, nueve de éstos se clasificaron como frecuentes y ocho como moderadamente frecuentes. Los casos del grupo control sano, en cambio, presentaron seis casos en la categoría moderadamente frecuente, cinco en escasos y tres en infrecuentes (Tabla 20).

TABLA 20. Distribución de los casos del grupo fibrosis y grupo control sano con respecto a la distribución de la fibrosis (frecuencia) encontrada histopatológicamente.

<i>DISTRIBUCIÓN DE LA LESIÓN (frecuencia)</i>	<i>GRUPO FIBROSIS</i>	<i>GRUPO CONTROL SANO</i>
Frecuente	9	0
Moderadamente frec	8	6
Escasos	0	5
Infrecuente	0	3
Total	17	14

En cuanto a la severidad dada por la característica capas de fibrosis alrededor de las glándulas, la distribución de los casos del grupo fibrosis se observó con seis casos en la categoría leve, ocho en la categoría moderada y tres en la categoría severa, mientras que, la totalidad de los casos del grupo control sano se encontró en la categoría leve (Tabla 21). La Tabla 22, señala la distribución de los casos del grupo fibrosis en relación a la severidad dada por el número de focos por campo. Es así como, la mayoría de los casos (13) se presentaron en la categoría severa, mientras que sólo cuatro se clasificaron en la categoría leve. Por otro lado, todos los casos del grupo control sano se ubicaron en la categoría leve. La Tabla 23 muestra las características de severidad de fibrosis analizados en conjunto según distribución de frecuencia. Se observa que solo una del total de muestras presenta en las dos características categorización leve y el resto en al menos una presenta moderado o severo.

TABLA 21. Distribución de los casos del grupo fibrosis y grupo control sano con respecto a la severidad de la fibrosis (capas alrededor de las glándulas) encontradas histopatológicamente.

<i>SEVERIDAD (capas de fibrosis alrededor de gl)</i>	<i>GRUPO FIBROSIS</i>	<i>GRUPO CONTROL SANO</i>
Leve	6	14
Moderada	8	0
Severa	3	0
Total	17	14

TABLA 22. Distribución de los casos del grupo fibrosis y grupo control sano con respecto a la severidad de la fibrosis (focos por campo) encontrada histopatológicamente.

<i>SEVERIDAD (focos de fibrosis por campo)</i>	<i>GRUPO FIBROSIS</i>	<i>GRUPO CONTROL SANO</i>
Leve	4	14
Severa	13	0
Total	17	14

TABLA 23. Análisis en conjunto de las características de severidad de fibrosis por medio de distribución de frecuencias en el grupo fibrosis.

<i>MUESTRA</i>	<i>SEVERIDAD</i>	
	<i>SEGÚN N° DE CAPAS ALREDEDOR DE GLÁNDULAS</i>	<i>SEGÚN N° DE FOCOS POR CAMPO</i>
1	moderada	leve
2	moderada	leve
3	leve	leve
4	leve	severa
5	severa	severa
6	leve	severa
7	moderada	severa
8	leve	severa
9	moderada	leve
10	severa	severa
11	leve	severa
12	moderada	severa
13	leve	severa
14	moderada	severa
15	moderada	severa
16	moderada	severa
17	severa	severa

Una vez realizada la distribución de frecuencias, se procedió a realizar la prueba de chi cuadrado corregido con el fin de determinar la asociación que existe entre el diagnóstico por ecografía y por biopsias de las alteraciones estudiadas. En los casos en que el número de muestras fue reducido se utilizó la prueba de Fisher.

La asociación según la prueba de Fisher, entre el diagnóstico ecográfico de inflamación y el diagnóstico histopatológico de acuerdo a la severidad de la lesión, entregó

un valor de $p = 0,277$, por lo tanto no es significativo. Esto quiere decir que no existe asociación entre los dos diagnósticos con respecto a la severidad de la inflamación.

Por otro lado, la asociación según la misma prueba entre el diagnóstico ecográfico de inflamación y el diagnóstico histopatológico de acuerdo a las características del foco, entregó un valor de $p = 0,278$, el cual tampoco es significativo. Este hecho implicaría que no hay asociación entre el diagnóstico ecográfico de inflamación y las características que tenga el foco.

En lo que respecta a la lesión fibrótica uterina, el resultado del análisis de chi cuadrado corregido para determinar la asociación entre el diagnóstico ecográfico y el histopatológico con respecto a la distribución de la lesión, arrojó un valor significativo ($p < 0,05$). Esto se traduce en que existiría una asociación entre el diagnóstico ecográfico y la distribución de la lesión.

Adicionalmente, se realizó una prueba de chi cuadrado corregido para determinar la asociación del diagnóstico ecográfico de fibrosis con el diagnóstico histopatológico en relación al número de focos por campo. El análisis arrojó un valor significativo con un valor $p < 0,05$. Este resultado, indicaría que existe asociación entre el diagnóstico ecográfico de fibrosis y el número de focos fibróticos por campo.

Por último, se realizó la prueba de Fisher con el fin de determinar la asociación que existe entre el diagnóstico ecográfico de fibrosis y el diagnóstico histopatológico en relación al número de capas de fibrosis alrededor de las glándulas. El resultado fue $p = 0,0015$, lo cual es significativo y corresponde a la existencia de asociación entre el diagnóstico ecográfico y el número de capas alrededor de las glándulas.

A título complementario, mediante un análisis morfométrico, se midió el colágeno presente en cada muestra calculando el porcentaje del área que éste ocupaba en la muestra histológica. En la Tabla 24, se observa la distribución de los porcentajes del área de colágeno con respecto a la tipificación ecográfica (grupo control sano, grupo inflamación y

grupo fibrosis). Finalmente, se realizó un análisis de varianza con un nivel de significancia de 0,05 comparando los porcentajes de área de colágeno de las tipificaciones ecográficas (grupo control sano, grupo inflamación y grupo fibrosis). Dicho análisis indicó que al comparar el porcentaje de área de colágeno entre las muestras del grupo fibrosis y las muestras del grupo control sano, si existió una diferencia significativa, esto indicaría que las muestras del grupo fibrosis presentaron una mayor cantidad de colágeno que las muestras del grupo control sano. Al comparar las muestras del grupo inflamación con las muestras del grupo fibrosis, también indicó que hay una diferencia significativa, es decir que en este caso también el grupo fibrosis tenía una mayor cantidad de colágeno que las muestras del grupo inflamación. Mientras que la comparación del grupo inflamación con muestras del grupo control sano no arrojó diferencia significativa.

TABLA 24. Distribución de los porcentajes de área de colágeno con respecto a la tipificación ecográfica.

<i>TIPIFICACIÓN ECOGRÁFICA (grupo)</i>	<i>Nº DE MUESTRAS</i>	<i>MEDIA DE PORCENTAJE DE ÁREA DE COLÁGENO</i>	<i>DESVIACIÓN ESTANDAR</i>
Control sano	14	0,21	0,14
Fibrosis	17	1,60	0,92
Inflamación	5	0,12	0,13

DISCUSIÓN

El fenómeno inflamatorio ecográficamente se caracterizó por la presencia de líquido en el lumen uterino y/o un engrosamiento de la pared. El primer hallazgo quedó representado por una imagen hipoecoica o anecoica, la cual se distinguió fácilmente de una imagen uterina normal, en donde el lumen se visualizó como una delgada línea o no se visualizó, tal como se menciona en la literatura (Adams, 1992). Estos acúmulos de líquido, en etapas distintas al estro, representan la presencia de procesos inflamatorios (Adams *et al.*, 1987). En base a lo anterior, las yeguas utilizadas en este estudio, se encontraban todas en anestro estacional al momento en que se realizaron los exámenes, por lo cual la visualización de pequeñas cantidades de líquido en el lumen uterino se consideró como un proceso inflamatorio. Considerar la etapa reproductiva durante la cual se hizo el diagnóstico, es un punto importante para discriminar entre inflamación y la presencia de líquido causada por el efecto de dominancia estrogénica que ocurre fisiológicamente en el estro.

Por otro lado, se consideró también como útero inflamado aquel cuyo diámetro sobrepasó los 32 mm, ya que según Griffin y Ginther (1991), el diámetro normal de un útero de yegua en las diferentes etapas del ciclo estral está dentro del rango de 24-32 mm, correspondiendo el valor más alto a la etapa estral y el más bajo al diestro. De acuerdo a esto, se esperaría que las yeguas de este estudio, las cuales se encontraban cursando la etapa de anestro, hayan presentado un diámetro más cercano al mínimo (24 mm); sin embargo, se optó por utilizar el límite mayor (32 mm) ya que este valor es un promedio y en los casos individuales puede variar.

De las cinco yeguas pertenecientes al grupo inflamación, tres presentaron ambos hallazgos y las otras dos solamente evidenciaron a la ecografía engrosamiento uterino; por lo tanto, según esta experiencia, el engrosamiento de la pared uterina tuvo mayor representatividad del proceso inflamatorio, ya que se evidenció en todos los casos.

A su vez, al examen histopatológico de biopsias provenientes de estas mismas cinco yeguas, cuatro de ellas presentaron como células predominantes PMN y linfocitos a la vez. Este hallazgo no permite clasificar la inflamación ni como de tipo aguda ni crónica, sino más bien, podría interpretarse como una inflamación crónica reagudizada. Este fenómeno podría darse por una disminuida eficiencia de la defensa normal del útero, provocada por desbalances endocrinos, edad avanzada o defectos anatómicos de la vulva o de la unión vestíbulo-vaginal (Evans *et al.*, 1987). En todos estos casos, la presencia de una inflamación crónica; es decir de larga data, podría activarse ante la presencia de uno de estos agentes o factores desencadenante, llevando a una inflamación aguda concomitante al proceso crónico.

La presencia de PMN también puede ser observada en yeguas que están en etapa de estro; sin embargo, en este estudio las muestras fueron tomadas en periodo de anestro estacional, por lo que se descartaría esta posibilidad. Además, en el periodo estral los PMN tienden a acumularse en la zona marginal de las vénulas y capilares cerca del lumen uterino (Kenney, 1978; Van Camp, 1993), mientras que en este estudio se presentaron en el estroma endometrial, lo cual es indicativo de alteración inflamatoria. Por otro lado, una sola muestra presentó sólo linfocitos como célula predominante, catalogándose como inflamación crónica.

Un hallazgo importante de destacar fue la presencia de glándulas quísticas en todas las muestras del grupo inflamación. Este hecho es interesante, ya que en la literatura las glándulas quísticas no son frecuentemente asociadas a un fenómeno inflamatorio, sino más bien al efecto estrangulador producido por una fibrosis periglandular y otros mecanismos como acumulación de secreción glandular durante el periodo de atrofia invernal, acompañado a veces por una atonía o hipotonía del miometrio en yeguas múltiparas (Kenney, 1978). Este último mecanismo podría explicar lo observado en esta experiencia ya que, como se mencionó anteriormente, las yeguas se encontraban en anestro invernal al momento de obtener las muestras.

Con respecto al grupo fibrosis, esta alteración se caracterizó por la visualización de una imagen altamente ecoica presente en el área endometrial del útero. Este hallazgo es atribuible a la presencia de tejido conectivo denso que genera una mayor impedancia que el tejido del estroma uterino (Griffin y Ginther, 1992). Dicha imagen se diferenció de un endometrio normal, el cual se visualizó con una ecotextura heterogénea oscura y pliegues endometriales no distinguibles, debido a la etapa de anestro. En este contexto, la anatomía ultrasonográfica del útero es profundamente influenciada por el estatus reproductivo, pudiendo reconocerse la etapa del ciclo que cursa una yegua por la anatomía ecográfica que este órgano presente (Ginther, 1986).

Por otro lado, la distribución de las fibras colágenas visualizadas mediante la técnica histopatológica, la ubicación periglandular y la formación de nidos fibróticos fue similar a la encontrada por Kenney (1978), Kenney y Doig (1986) y Evans *et al.*, (1998), entre otros. Sin embargo, la fibrosis subepitelial descrita en la literatura no fue un hallazgo común en esta experiencia.

Otro hallazgo encontrado en las muestras del grupo fibrosis, fue la importante presencia de glándulas quísticas. Este hecho es concordante con la literatura, la cual sostiene que éstas pueden presentarse debido al estrangulamiento por la fibrosis periglandular o producto de la hipertrofia epitelial que se da en esta misma alteración (Kenney, 1978).

En lo que respecta al análisis comparativo entre las biopsias de áreas ecográficas con inflamación y áreas ecográficas normales de un mismo útero, no existió una diferencia importante en la severidad y distribución de la lesión. Pese a esto, los PMN tuvieron una mayor presentación en áreas ecográficas inflamadas. Esta similitud histopatológica entre ambas áreas, podría explicarse por el hecho de que al existir un proceso inflamatorio en alguna zona del endometrio éste probablemente se manifestará también en el resto del útero. Debido a esto, las zonas que a la ecografía se observaban normales estarían cursando un proceso inflamatorio incipiente producto de la diseminación de las células inflamatorias desde las áreas inicialmente afectadas. En efecto, según Kenney (1975) y Blanchard *et al.*

(1987), al existir cambios patológicos en el endometrio no hay diferencias significativas en los parámetros inflamatorios entre las diferentes zonas del endometrio. Lo mismo afirma Blanchard *et al.* (1987) con respecto a la clasificación histopatológica de Kenney (1978), mediante un estudio en donde sostuvo que no hay diferencias en la categoría histopatológica de las muestras obtenidas de diferentes sitios endometriales de una misma yegua. La presente experiencia arrojó resultados diferentes con respecto a este último punto, ya que efectivamente se encontró diferencias en las categorías histopatológicas de las zonas normales e inflamadas en una misma yegua (Tabla 1). Un hecho importante de mencionar con el fin de explicar estas diferencias entre los resultados de este estudio con los de Blanchard *et al.* (1987), es que este último se basó en la clasificación hecha por Kenney en 1978, que contempla las categorías I, II y III y no las categorías descritas posteriormente por Kenney y Doig el año 1986, las cuales corresponden a I, IIA, IIB y III que fueron utilizadas en esta experiencia.

En el mismo sentido, al comparar histopatológicamente las áreas uterinas que a la ecografía se observaron normales y fibróticas no se evidenciaron grandes diferencias entre ambas. Si bien, con respecto a la distribución y severidad de la lesión la categorización de las zonas uterinas que a la imagen ecográfica se mostraron sanas fue en algunos casos menor que la de las zonas alteradas (Tabla 8-11), donde a grandes rasgos no existió una diferenciación sustentable. Este hecho, se explicaría por las razones anteriormente planteadas referidas a la inflamación, ya que un útero que presenta lesiones fibróticas en ciertas zonas endometriales, probablemente desarrollará las lesiones en todo el endometrio. Con respecto a la categorización histopatológica de Kenney y Doig (1986), se evidenció el mismo comportamiento de ambas zonas que para distribución y severidad de la lesión, es decir, aunque se presentaron diferencias éstas no fueron relevantes.

Asimismo, al realizar la categorización histopatológica de las muestras de biopsia según Kenney y Doig (1986), los casos del grupo fibrosis se clasificaron todos en las categorías IIB y III, con seis y 11 casos, respectivamente (Tabla 18), las cuales representan mayor compromiso endometrial y a su vez menor capacidad potencial para mantener un potrillo hasta su término (Kenney, 1978; Kenney y Doig, 1986)

En cuanto al análisis estadístico para determinar el grado de asociación que existe entre el diagnóstico ecográfico y el histopatológico de inflamación, este arrojó que no existe asociación entre ambos, lo cual indicaría que estadísticamente la técnica ecográfica no sería útil para diagnosticar esta alteración. Sin embargo, para definir con mayor precisión la real utilidad de la técnica ecográfica para detectar la inflamación endometrial, harían falta otros estudios con una mayor cantidad de muestras.

En cuanto al grado de asociación que existe entre ambas técnicas para el diagnóstico de fibrosis, si bien, el hallazgo hiperecoico fue indicador de esta alteración, no permitió determinar su grado o severidad. Sin embargo, se postulaba que la sola visualización de un alta ecogenicidad en la imagen endometrial, indicaría la presencia de alteraciones del tejido a un nivel moderado a severo. Este supuesto no sería válido si las características que se evalúan para determinar la severidad de la alteración se analizan en forma separada, ya que el análisis de frecuencias reveló que con respecto al número de capas alrededor de las glándulas solamente 11 de 17 muestras del grupo fibrosis estuvieron en dichas categorías (Tabla 21); mientras que, en relación al número de focos por campo, 13 de las 17 muestras se encontraron en la categoría severa y las cuatro restantes se ubicaron en la categoría leve (Tabla 22). En cambio, al realizar un análisis simultáneo de ambas características para cada caso, solamente una de las 17 muestras se presentó con severidad leve en los dos ítems y, en las 16 restantes, al menos una de las características se clasificó en categoría moderada o severa (Tabla 23). Este análisis, explicaría de mejor forma el supuesto planteado anteriormente, referido a que la presencia de una imagen endometrial hiperecoica, indicaría que la fibrosis está en un grado al menos moderado. A su vez, en lo que respecta a las muestras del grupo control sano, es decir, de yeguas que presentaron úteros sanos en toda su extensión, todas fueron clasificadas según severidad en la categoría leve, lo que indicaría que los casos ecográficamente normales también lo son histopatológicamente. Adicionalmente, este hecho fue avalado por la prueba de chi cuadrado corregido, la cual indicó que existe una asociación entre el diagnóstico ecográfico e histopatológico de fibrosis uterina. Por otro lado, al ser significativa la diferencia entre los porcentajes del área de colágeno entre los casos del grupo control sano

y los del grupo fibrosis por medio del análisis de varianza se corroboraría que este método es eficiente para detectar este tipo de alteraciones.

CONCLUSIONES

1.- La caracterización de los hallazgos ecográficos e histopatológicos de las alteraciones inflamación y fibrosis fueron concordantes con la literatura revisada.

2.- Al comparar histopatológicamente zonas inflamadas y sanas de un mismo útero, no se encontraron diferencias importantes.

3.- Al comparar histopatológicamente zonas fibróticas y sanas de un mismo útero, no se encontraron diferencias importantes.

4.- El grado de asociación entre la técnica ecográfica e histopatológica para el diagnóstico de inflamación no fue estadísticamente significativo.

5.- El grado de asociación entre la técnica ecográfica e histopatológica para el diagnóstico de fibrosis fue estadísticamente significativo.

6.- El examen ecográfico permitiría realizar un diagnóstico presuntivo de fibrosis endometrial. En cuanto a la inflamación, si bien esta experiencia no permitió definir certeramente su utilidad, los hallazgos encontrados concordantes con dicha alteración indicarían que ésta técnica podría ser utilizada como herramienta diagnóstica siempre y cuando sea corroborada con otras técnicas.

BIBLIOGRAFÍA.

ADAMS, G.P.; KASTELIC, J.P.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J. 1987. Effect of uterine inflammation and ultrasonically-detected uterine pathology on fertility in the mare. *J Reprod Fertil Suppl* 35:445-454.

ADAMS, G.P. 1992. Ultrasonographic examination of the mare's reproductive tract **In:** Robinson, E.D. *Current Therapy in equine medicine*. WB Saunders. Philadelphia, USA. pp. 648-656

ADAMS, G.P.; BOSU, W.T.K. 1993. Fisiología reproductiva de la yegua no gestante. **In:** Van Camps, S.D. *Clínicas Veterinarias de Norteamérica. Práctica equina. Reproducción*. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina. pp. 1-22.

ALLEN, W.R. 1993. Summary of the proceedings of the John P. Hughes international workshop on equine endometritis. *Equine Vet J* 25: 184-193.

BARRY, B. 1988. Embryonic loss in mares. Incidence, possible causes and diagnostic considerations. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 4(2): 263-287.

BLANCHARD, T.L.; GARCÍA, M.C.; KINTNER, L.D.; KENNEY, R.M. 1987. Investigation of the representativeness of a single endometrial sample and the use of trichrome staining to aid in the detection of endometrial fibrosis in the mare. *Theriogenology* 28(4):445-450.

BURNS, S.J.; LAYTON, G.E. 1986. Ultrasound: An aid for pregnancy detection in the mare **In:** Morrow, D.A. *Current Therapy in Theriogenology*. 2^a ed. WB Saunders. Philadelphia, USA. pp. 679-684.

CARROL, C.L.; MITCHELL, G. 1982. The role of endometrial biopsy. *J Reprod Fertil Suppl* 32: 639.

CHAFFIN, M.K.; FUENTEALBA, I.C.; SCHMITZ, D.G.; READ, W.K. 1990. Endometrial adenocarcinoma in a mare. *Cornell Vet* 80(1):65-73.

CÍNTORA, I. 2006. Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la yegua. [en línea] <http://www.engormix.com/anatomia_fisiologia_aparato_reproductor_s_articulos_216_CAB.htm> [consulta 16-03-2006].

DE LA CONCHA-BERMEJILLO, A.; KENNEDY, P.C. 1982. Prognostic value of endometrial biopsy in the mare: a retrospective analysis. *J Am Vet Med Ass* 181: 680-681.

DOIG, P.A.; MC KNIGHT, J.D.; MILLER, R.B. 1981. The use of endometrial biopsy in the infertile mare. *Can Vet. J.* 22: 72-76.

EVANS, M.J.; HAMER, J.M.; GASON, L.M.; IRVINE, C.H. 1987. Factors affecting uterine clearance of inoculated materials in mares. *J Reprod Fertil Suppl* 35:327-334.

EVANS, T.J.; MILLER, M.A.; GANJAM, V.K.; NISWENDER, K.D.; ELLERSIECK, M.R.; KRAUSE, W.J.; YOUNGQUIST, R.S. 1998. Morphometric analysis of endometrial periglandular fibrosis in mares. *Am J Vet Res* 59(10): 1209 – 1214.

GANJAM, V.K.; EVANS, T.J. 2006. Equine endometrial fibrosis correlates with 11 β -HSD₂, TGF- β ₁ and ACE activities. *Mol Cell Endocrinol* 248: 104-108.

GARY, W.; MANNING, J.P. 1969. Improved uterine biopsy technics for diagnosis infertility in the mare. *Vet Med Small Anim Clin* 64:977-983.

GINTHER, O.J. 1986. *Ultrasounds imagins and reproductive events in the mare.* University of Wisconsin, Departament of Veterinary Science. Madison-Wisconsin, USA. 378 p.

GINTHER, O.J.; PIERSON, R.A. 1983. Ultrasonic evaluation of the reproductive tract of the mare; principles, equipment, and techniques. *J Equine Vet. Sci* 3(6): 195-201.

GINTHER, O.J.; PIERSON, R.A. 1984. Ultrasonic anatomy and pathology of equine uterus. *Theriogenology* 21(3): 505-515.

GRIFFIN, P.G.; GINTHER, O.J. 1991. Uterine and fetal dynamics during early pregnancy in mares. *Am J Vet Res* 52(2): 298-306.

GRIFFIN, P.G.; GINTHER, O.J. 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J Anim Sci* 70:953-972.

GORDON, L.R.; SARTIN, E.M. 1978. Endometrial biopsy as an aid to diagnosis and prognosis in equine infertility. *J Equine Med Surg* 2:328-336.

GROSS, T.L.; LEBLANC, M. 1984. Seasonal variation of histomorphologic features of equine endometrium. *J Am Vet Med Assoc* 184(11):1379-1382.

HAFEZ, E.S.E. 2000. Caballos. **In:** Reproducción e inseminación artificial en animales, 6ª edición. Interamericana-Mc Graw-Hill. México D.F, México. pp.339-360.

HEMBERG, E.; LUNDEHEIM, N.; EINARSSON, S. 2005. Retrospective study on vulvar conformation in relation to endometrial cytology and fertility in thoroughbred mares. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 52(9):474-477.

HUGHES, J.P. 1982. Clinical examination of the brood mare. *J Reprod Fertil Suppl* 32: 637.

HURTGEN, J.P. 2006. Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: A review. *Theriogenology* 66: 560–566.

KENNEY, R.M. 1975. Prognostic value of endometrial biopsy of the mare. *J Reprod Fert. suppl* (23): 347-348.

KENNEY, R.M. 1977. Clinical aspect of endometrial biopsy in fertility evaluation of the mare. **In:** Proceedings of the 23 annual meeting of american association of equine practitioner. Lexington, Kentucky, USA pp355-362.

KENNEY, R.M. 1978. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *J Am Vet Med Assoc* 172(3): 241-262.

KENNEY, R.M.; DOIG, P.A. 1986. Equine endometrial biopsy. **In:** Morrow, D.A. Current Therapy in Theriogenology. 2ª ed. WB Saunders. Philadelphia, USA. pp. 723-729.

KIELER, H.; HAGLUND, B.; WALDENSTROM, U.; AXELSSON, O. 1997. Routine ultrasound screening in pregnancy and the children's subsequent growth, vision and hearing. Br J Obstet Gynaecol 104 (11):1267-1272.

LEBLANC, M. 1998. Enfermedades del aparato reproductivo: La yegua. **In:** Calaham, P.; Maythew, I.; Merritt, A.; Moore, J. 4ª edición. American Veterinary Publication Inc. California, Estados Unidos. pp. 982-1013.

LEBLANC, M. 2004a. Management of mare with endometris. **In:** X Congresso Nazionale Multisala Sive. Perugia, Italia. 31 january - 1 february, 2004. [en línea] < <http://www.ivis.org/proceedings/SIVE/2004/lectures/leblanc3.pdf> > [consulta: 20-04-2005]

LEBLANC, M. 2004b. Infertility: mares that conceive and loose their pregnancy. **In:** X Congresso Nazionale Multisala Sive. Perugia, Italia. 31 january - 1 february, 2004. [en línea] < <http://www.ivis.org/proceedings/SIVE/2004/lectures/leblanc3.pdf> > [consulta: 20-04-2005]

LEISHMAN, D.; MILLER, R.B.; DOIG, P.A. 1982. A quantitative study of the histological morphology of the endometrium of normal and barren mares. Can J Comp Med 46(1): 17-20.

MACPHERSON, M.L.; REIMER, J.M. 2000. Twin reduction in the mare: current options. Anim Reprod Sci 60-61: 233-244.

MATHER, E.C.; REFSAL, K.R.; GUSTAFSSON, B.K.; SEGUIN, B.E.; WHITMORE, H.L. 1979. The use of fibre-optic techniques in clinical diagnosis and visual assessment of experimental intrauterine therapy in mares. J Reprod Fertil Suppl (27): 293-297.

NEWNHAM, J.P.; EVANS, S.F.; MICHAEL, C.A.; STANLEY, F.J.; LANDAU, L.I. 1993. Effects of frequent ultrasound during pregnancy: a randomised controlled trial. Lancet 342 (8876): 887-891.

NEWNHAM, J.P.; DOHERTY, D.A.; KENDALL, G.E.; ZUBRICK, S.R.; LANDAU, L.L.; STANLEY, F.J. 2004. Effects of repeated prenatal ultrasound examinations on childhood outcome up to 8 years of age: follow-up of a randomised controlled trial. *Lancet* 364 (9450): 2038-2044.

MUÑOZ, B. 1995. Importancia del uso sistemático de la ecografía en el manejo reproductivo de la yegua fina sangre de carrera. *Av Cienc Vet* 10(1): 11-18.

NIELSEN, J.M. 2005. Endometritis in the mare: A diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology* 64:510-518.

PALMER, E.; DRIANCOURT, M.A. 1980. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. *Theriogenology* 13(3): 203-216.

PIERSON, R.A.; KASTELIC, J.P.; GINTHER, O.J. 1988. Basis principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horse. *Theriogenology* 29(1): 3-20.

PRIEDKALNS, J. 1994. Sistema reproductor femenino. **In:** Dellmann H.D. *Histología veterinaria*. 2ª ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. pp 267-290.

REISWING, J.D.; THERELFALL, W.R. ROSOL, T.J. 1993. A comparison of endometrial biopsy, culture and cytology during oestrus and dioestrus in the horse. *Equine Vet J* 25(3): 240-241.

RICKETTS, S.W. 1975. Endometrial biopsy as guide to diagnosis of endometrial pathology in mare. *J Reprod Fertil Suppl* (23): 341-345.

RICKETTS, S.W.; ROSSDALE, P.D.; SAMUEL, C.A. 1977. Endometrial biopsy studies of mares with contagious equine metritis. *Equine Vet J* 10(3): 160-166.

RICKETTS, S.; WINFIELD, N. 1982. Endometrial cytology. *J Reprod Fertil Suppl* 32: 638-639.

SISSON, S.; GROSSMAN, J.D. 1982. Sistema urogenital de los equinos. **In:** *Anatomía de los animales domésticos*. 5ª edición. Ed. Masson S.A. Barcelona, España. pp. 585-614.

SQUIRES, E.L.; VOSS, J.L.; VILLAHOZ, M.D.; SHIDELER, R.K. 1983. Use of ultrasound in broomare reproduction. **In:** Proceedings of the 23rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioner. Las Vegas, USA. pp. 27-43.

SQUIRES, E.L.; MCKINNON, A.O.; SHIDELER, R.K. 1988. Use of ultrasonography in reproductive management of mares. *Theriogenology* 29(1): 55-70.

TROEDSSON, M.H.T 1999. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology* 52(3): 461-471.

VAN CAMP, S.D. 1993. Biopsia endometrial de las yeguas. Revisión y actualización. **In:** Clínicas veterinarias de Norteamérica. Práctica equina. Reproducción. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina. pp. 93-112.

VOGELSANG, M.M.; VOGELSANG, S.G.; LINDSEY, B.R.; MASSEY, J.M. 1989. Reproductive performance in mares subjected to examination by diagnostic ultrasound. *Theriogenology* 32(1): 95-103.

WALTER, L.; HANDLER, J.; REIFINGER, M.; AURICH, C. 2001. Association of endometriosis in horses with differentiation of periglandular myofibroblasts and changes of extracellular matrix protein. *J Reprod Fertil* 121:581-586.

WILSON, L.G. 1985. Diagnostic and therapeutic hysteroscopy for endometrial cyst in mares. *Vet Med* 80(10): 59-63.

WOOLCOCK, J. 1982. Bacteriological examination. *J Reprod Fertil Suppl* 32: 639.

ANEXO 1.

Ficha ecográfica

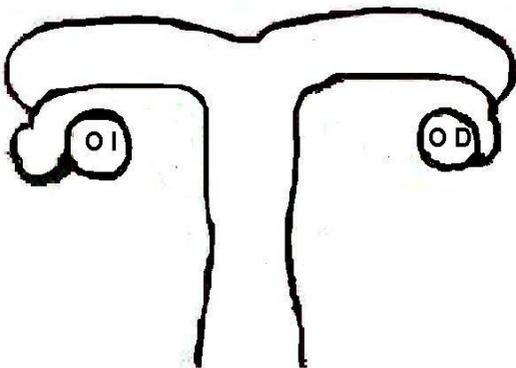
Ecografía uterina

Fecha: _____

Nombre de yegua: _____

Edad: _____

Observaciones:



-Cuerno derecho: _____

-Cuerno izquierdo: _____

-Cuerpo: _____

Lugar de extracción de la biopsia:

- ___ Cuerno derecho
- ___ Base de cuerno derecho
- ___ Cuerno izquierdo
- ___ Base cuerno izquierdo
- ___ Cuerpo

Diámetro: cm.

Biopsia endometrial (determinación de cambios patológicos):

Modificado de Kenney (1978) y Kenney y Doig (1986).

Examinador:

Fecha:

Nº Muestra:

❖ **-Inflamación:**

➤ Distribución de la lesión:

- ✓ Extención: Uniforme___; Dispersa___
- ✓ Frecuencia: Frecuente___; Moderadamente frec___; Escasos___; Infrecuente___.
- ✓ Distribución anatómica: EC___; EE___; Perivascular___; Periglandular___

➤ Severidad de la lesión:

- ___ Pequeñas (< 120 µm)
- ___ Moderadas (120- 300 µm)
- ___ Grandes (> 300 µm)

➤ Características del foco y célula predominante:

✓ Características del foco:

- ___ Discreto (definidos, delineados o localizados)
- ___ Difuso

✓ Tipo celular:

- ___ Linfocito, plasmocito, eosinófilo
- ___ PMN
- ___ Macrófagos; siderófagos
- ___ otros _____

❖ **-Fibrosis:**

➤ Distribución de la lesión:

- ✓ Extención: Uniforme___; Dispersa___
- ✓ Frecuencia: Frecuente___; Moderadamente frec___; Escasos___; Infrecuente___.
- ✓ Distribución anatómica: EC___; EE___; Perivascular___; Periglandular___

➤ Severidad:

✓ Número de capas alrededor de las glándulas

- ___ Leve (1-3 capas)
- ___ Moderada (4-10 capas)
- ___ Severa (> a 11 capas)

✓ Número de focos por campo en área glandular:

- ____ Leve ($5,5 \text{ mm}^2 < 3$ nidos)
- ____ Severa ($5,5 \text{ mm}^2 > 5$ nidos)

❖ -Atrofia endometrial: No____; Si (Leve____; Moderado____; Severa____).

❖ -Lagunas linfáticas ____

❖ -Glándulas quísticas: No____; Si __ (Focal____; Multifocal____; Focal diseminada____; Diseminada____).

❖ -Hipertrofia y atrofia glandular ____

❖ Categoría:

○ ____ **Categoría I:** El endometrio no presenta cambios patológicos y si los tiene son muy leves y esporádicos. No se encuadra dentro de esta categoría un endometrio atrófico en categoría moderada o severa.

○ **Categoría II:** Presencia de infiltrado inflamatorio difuso, de leve a moderado en el estrato compacto; o focos inflamatorios dispersos pero frecuentes del estrato compacto y el esponjoso. Cambios fibróticos aislados, con grado variable de severidad (de 2 a 3 capas alrededor de nidos glandulares, o 3 a 4 focos por área glandular). Lagunas linfáticas evidentes y atrofia endometrial parcial.

▪ ____ **Categoría IIA:** La presencia de uno de los cambios mencionados anteriormente ubica al endometrio estudiado en esta categoría.

▪ ____ **Categoría IIB:** En ella se incluyen las muestras con más de uno de estos cambios.

○ ____ **Categoría III:** Inflamación severa difusa, generalizada; fibrosis periglandular generalizada; lagunas linfáticas palpables y atrofia endometrial.

❖ Observaciones: _____

ANEXO 3. Figuras histológicas y ecográficas

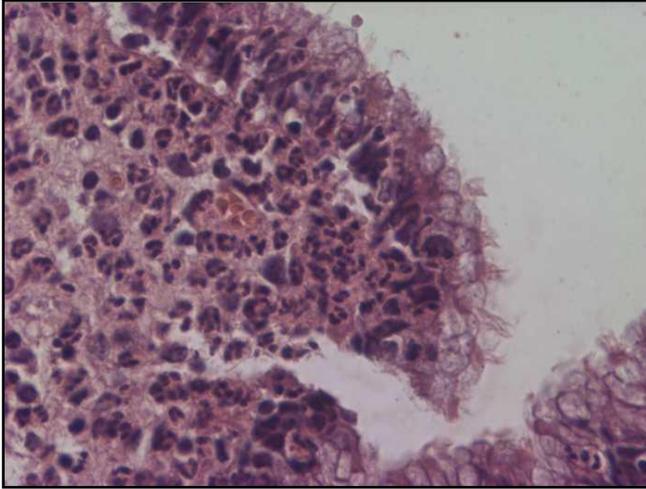


FIGURA 10: Acúmulo subepitelial de PMN, con tinción de Hematoxilina-Eosina a 400X.

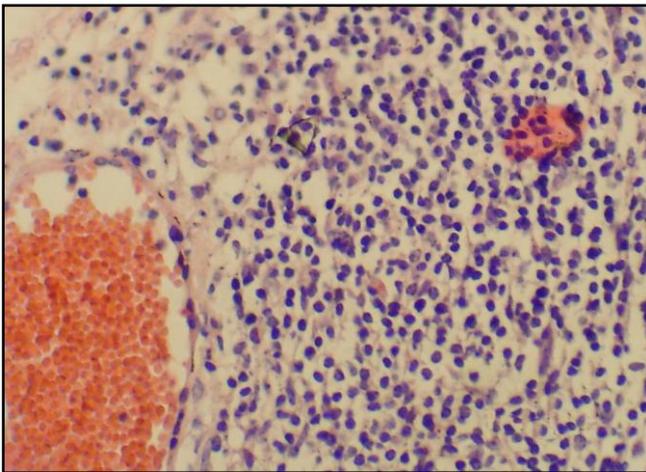


FIGURA 11: Acúmulo de linfocitos, con tinción de Hematoxilina-Eosina a 200X.

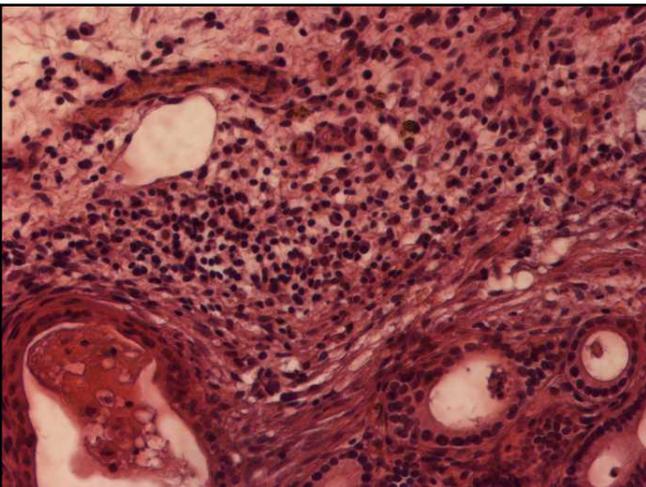


FIGURA 12: Acúmulo de linfocitos entre glándulas, con tinción de Hematoxilina-Eosina a 200X.

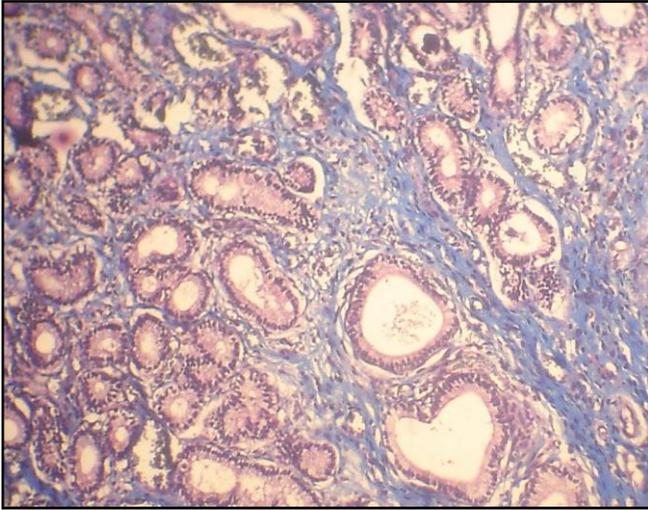


FIGURA 13: Fibrosis periglandular moderada, con tinción de Masson a 100X.

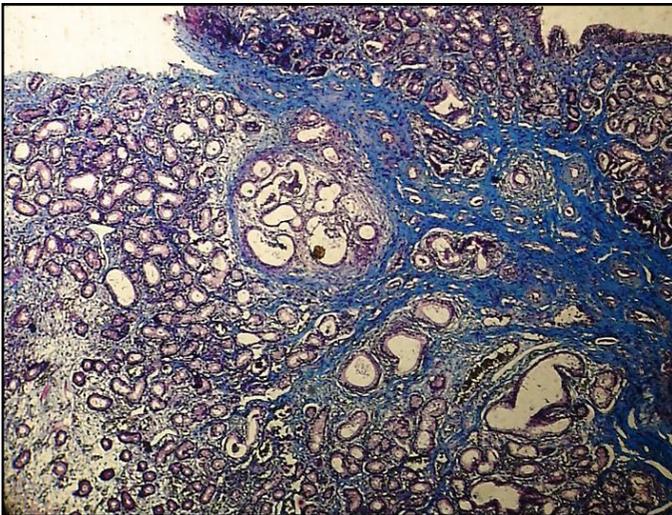


FIGURA 14: Foco de fibrosis severa donde se observan nidos de glándulas quísticas, con tinción de Masson a 40X.

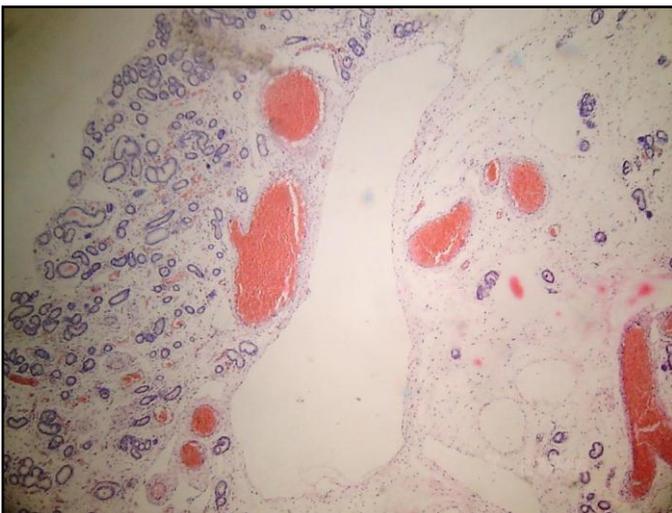


FIGURA 15: Laguna linfática, con tinción de Hematoxilina-Eosina a 40X.

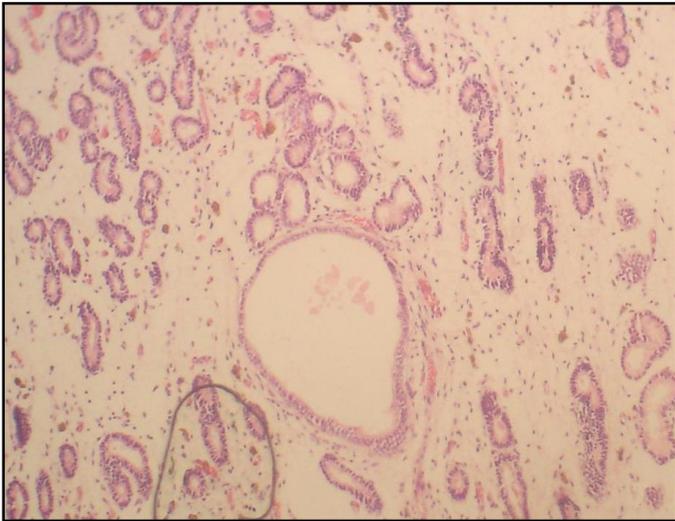


FIGURA 16: Glándula quística, con tinción de Hematoxilina-Eosina a 40X.

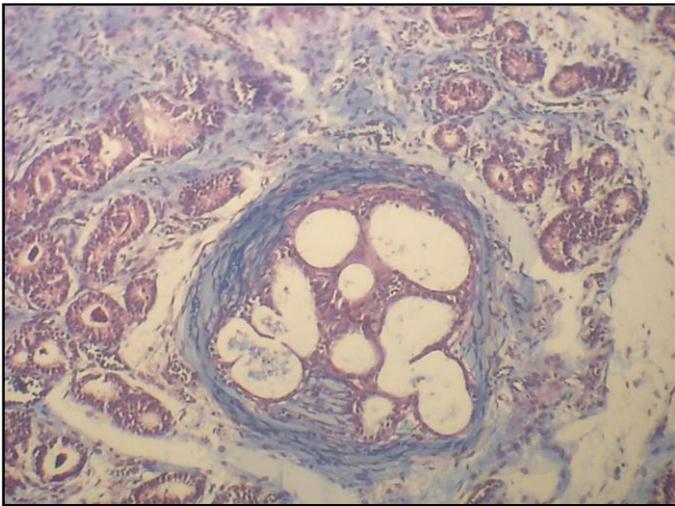


FIGURA 17: Fibrosis periglandular severa donde se observa nido con glándulas quísticas, con tinción de Masson a 100X.

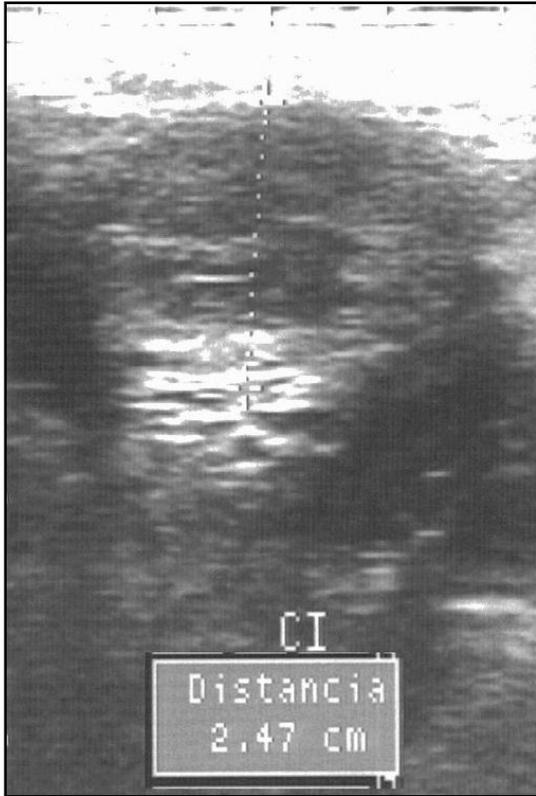


FIGURA 18: Imagen ecográfica de cuerno izquierdo con diámetro normal.

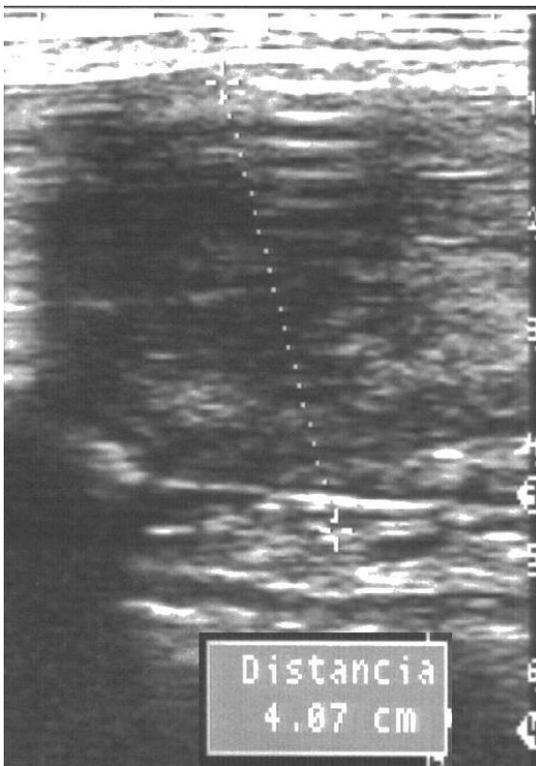


FIGURA 19: Imagen ecográfica de cuerno izquierdo con diámetro aumentado.

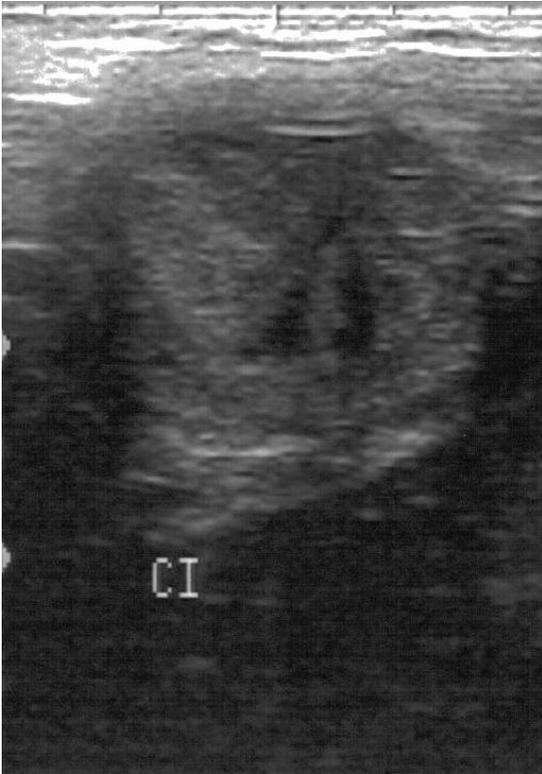


FIGURA 20: Imagen ecográfica de cuerno izquierdo con presencia de líquido entre los pliegues del útero.

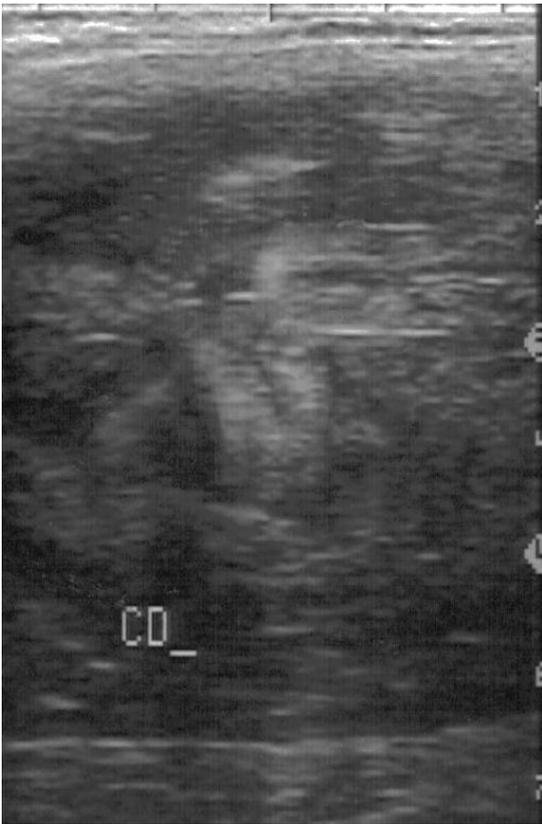


FIGURA 21: Imagen ecográfica de cuerno derecho hiperecoico, representativo de fibrosis endometrial.