



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA  
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION TEMPORAL DE UN  
PROGESTAGENO SOBRE LA FUNCION DEL CUERPO  
LUTEO Y LA SOBREVIVENCIA DEL PRODUCTO EN  
YEGUAS USADAS PARA LA PRODUCCION DE MULAS**

**T E S I S**  
PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS

**P R E S E N T A**  
ERIKA FUENTES RIOS

**T U T O R**  
DRA. ANA MYRIAM BOETA ACOSTA

**MÉXICO, D.F.**

**2010**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DECLARACIÓN

El autor da el consentimiento a la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, para que la tesis esté disponible para cualquier tipo de reproducción e intercambio bibliotecario.

---

*ERIKA FUENTES RÍOS*

# **D E D I C A T O R I A S**

## **AMI MADRE Y A MI HERMANO:**

María del Carmen Ríos Velazquez y Oscar Fuentes Ríos, a quienes no podré pagar todo su esfuerzo y desvelos ni aún con las riquezas más grandes del mundo, por que gracias a su apoyo y consejo he llegado a realizar una más de mis metas, la cual constituye la herencia más valiosa que pudiera recibir.

Deseo de todo corazón que mi triunfo profesional lo sientan como suyo.

## **A MI PADRE Y A MIS ABUELOS:**

José Fuentes González, Hermelinda Velazquez y Leandro Ríos Piña, a quienes desde donde estén les agradezco con un profundo amor el apoyo y el permanecer conmigo incondicionalmente, no desampararme y cuidarme en todo momento.

## **A UNA PERSONA MUY ESPECIAL:**

Ricardo Pérez Gaytán, quien con su amor, paciencia y respeto hacia mi persona estuvo conmigo en las situaciones buenas y malas incondicionalmente y que comparte una gran parte de su vida conmigo y a quien quiero decirle ¡Gracias Pollito TAM!

## **A MIS AMIGOS, COMPAÑEROS Y COLEGAS:**

Idahue Ojeda, Toña Luna, Claudia Velazquillo, Daniel García, Heli Guerra, Fernando Calderón, Alain Martínez, Berenice García y Guadalupe Zariñana que en las buenas y en las malas estuvieron conmigo compartiendo mis historias, preocupaciones, alegrías y éxitos. Así como a Yola, Circe, Adriana, Luis, Erik, Lourdes, Angelina, Susana, Ana, Mario, Bruno, Toño, Ernesto y Linda, por sus ratos de compañía y apoyo.

## **A LOS PROFESORES:**

Dra. Myriam Boeta, Dra. Teresa Torres, Dr. Luis Zarco, Dr. Joel Hernández, Dr. Alberto Balcazar y Dr. Carlos Guzmán Clarck que me apoyaron, creyeron en mí y me dieron la oportunidad de conocerlos.

**A TODOS ELLOS CON AMOR, ADMIRACIÓN Y RESPETO.**

# A G R A D E C I M I E N T O S

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por permitirme lograr alcanzar una meta más en mi vida académica y profesional.

Al Programa de Investigación (PAPIIT) por apoyar el área y línea de investigación en la que trabajé al otorgar el presupuesto necesario para llevar a cabo y terminar con éxito el presente proyecto de maestría.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

A los miembros que formaron parte de mi comité tutorial, los doctores Luis Alberto Zarco Quintero, Myriam Boeta Acosta y Teresa Sánchez Torres Esqueda por la paciencia y el conocimiento otorgado durante la realización del proyecto.

A Susana Rojas, Anita Rodríguez y Clara Murcia, por el apoyo en las determinaciones hormonales en laboratorio.

Y especialmente a la Dra. Myriam Boeta Acosta y al Dr. Carlos Guzmán Clarck por su apoyo incondicional y sobre todo por su amistad brindada y quienes me dieron la oportunidad de conocerlos y pertenecer a un gran equipo de trabajo.

## RESUMEN

### **Efecto de la administración temporal de un progestágeno sobre la función del cuerpo lúteo y la sobrevivencia del producto en yeguas usadas para la producción de mulas. Fuentes R.**

El objetivo del presente trabajo fue determinar los efectos de la administración de altrenogest sobre la producción de progesterona por el cuerpo lúteo primario y/o la formación de cuerpos lúteos suplementarios durante la gestación de yeguas con producto híbrido. Adicionalmente, a través del seguimiento por ultrasonografía y determinaciones de la concentración de eCG y progesterona, se determinó la viabilidad fetal antes, durante y después del tratamiento con altrenogest. Se utilizaron 30 yeguas clínicamente sanas, las cuales fueron divididas al azar en dos grupos: 15 yeguas inseminadas con semen de asno fueron tratadas con altrenogest por vía oral, desde el día 35 al 70 de la gestación y 15 yeguas servidas también con semen de asno sirvieron como grupo testigo. Para determinar la viabilidad embrionaria y el ritmo de crecimiento de la vesícula fetal, a partir de los 30 días de gestación se llevaron a cabo ultrasonidos dos veces por semanas. A partir del día 35 de la gestación se inició la administración de altrenogest en el grupo experimental, a una dosis diaria de 0.088 mg/kg de peso hasta el día 70 de la gestación. El grupo testigo recibió un placebo (agua) durante el mismo periodo. Se obtuvieron muestras sanguíneas dos veces por semana a través de la punción de la vena yugular utilizando tubos vacutainer con gel activador de suero. Las muestras fueron centrifugadas para obtener el suero y este se almacenó a -20°C hasta la determinación de las concentraciones de progesterona y eCG. Al comparar los resultados entre el grupo experimental y testigo, se observó que la incidencia total de pérdidas de gestación fue mayor ( $p>0.05$ ) en las yeguas tratadas con altrenogest (26.6%) que en las yeguas no tratadas (13.3%). El tratamiento con altrenogest redujo significativamente el número de yeguas que formaron cuerpos lúteos secundarios ( $p>0.05$ ). Todos los abortos ocurridos en las yeguas tratadas con altrenogest sucedieron en yeguas que no formaron cuerpos lúteos suplementarios y presentaron concentraciones muy reducidas de eCG. Se concluye que al parecer la retroalimentación negativa provocada por el altrenogest sobre la secreción de LH evita la formación de cuerpos lúteos suplementarios y resulta en concentraciones bajas de progesterona en aquellas yeguas con concentraciones excesivamente bajas de eCG, lo que en ocasiones podría asociarse con aborto. En yeguas con concentraciones de eCG similares al promedio de las gestaciones mularas, la inhibición probable de la secreción de LH por administración de altrenogest no reduce la secreción de progesterona.

**Palabras clave:** eCG, gestación mular, altrenogest, progestágenos sintéticos.

## **ABSTRACT**

### **Effect of the temporary administration of a progestogen on the corpus luteum function and survival of the product used in mares to produce mules. R. Fuentes.**

The aim of this study was to determine the effects of altrenogest management on the production of progesterone by the corpus luteum primary and / or the formation of additional corpora lutea during pregnancy in mares with hybrid product. In addition, through monitoring and ultrasound measurements of the concentration of eCG and progesterone, fetal viability was determined before, during and after treatment with altrenogest. Therefore, 30 clinically healthy mares, which were divided randomly into two groups: 15 mares inseminated with donkey semen were treated with oral altrenogest from 35 to 70 days of gestation and also served 15 mares with semen from ass served as control group. To determine embryo viability and the rate of growth of the fetal gallbladder, from 30 days of gestation were performed ultrasounds twice a week. From day 35 of gestation began altrenogest administration in the experimental group, at a daily dose of 0.088 mg/kg until day 70 of gestation. The control group received a placebo (water) during the same period. Blood samples were collected twice weekly via jugular venipuncture using vacutainer tubes with gel activator serum. The samples were centrifuged to obtain serum and this was stored at -20 ° C to determine concentrations of progesterone and eCG. When comparing the results between the experimental control groups, it was higher ( $p > 0.05$ ) in mares treated with altrenogest (26.6%) than in untreated mares (13.3%). Altrenogest treatment significantly reduced the number of mares that formed secondary corpora lutea ( $p > 0.05$ ). All abortions occurred in mares treated with altrenogest occurred in mares that did not form corpora lutea and presented additional very low concentrations of eCG. It apparently concludes that the negative feedback caused by altrenogest on LH secretion prevents the formation of additional corpora lutea and results in low concentrations of progesterone in those mares with excessively low concentrations of eCG, which at times could be associated with abortion. In mares with eCG concentrations similar to the average mule pregnancies, probably inhibition of LH secretion by administration of altrenogest not reduce the secretion of progesterone.

**Keywords:** eCG, mules pregnancy, altrenogest, synthetic progestins

## **CONTENIDO**

PORTADA

DECLARACIÓN

DEDICATORIAS

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS

HIPÓTESIS

REVISION DE LITERATURA

MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS

DISCUSION

CONCLUSIONES

LITERATURA CITADA

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

**Fig. 1** Diagrama que muestra las actividades llevadas a cabo durante el trabajo de campo en ambos grupos de animales. IA=Inseminación Artificial; Dx gx= Diagnóstico de gestación; n= número de animales; Semana X= enumera las semanas consecutivas desde la semana 5 hasta la semana 17. **Pag. 33**

**Cuadro 1.** Incidencia de pérdidas de gestación en yeguas tratadas con altrenogest **Pag. 34**

**Cuadro 2.** Número de yeguas tratadas o sin tratar con altrenogest que formaron cuerpos lúteos suplementarios durante los primeros 120 días de gestación. **Pag.35**

**Fig. 2** Concentraciones promedio de progesterona en gestación de yeguas gestantes con embrión mula del grupo experimental y del grupo testigo. Las concentraciones de progesterona no fueron estadísticamente diferentes entre los grupos ( $p>0.05$ ). Las barras representan el error estándar. La franja oscura indica el periodo de tratamiento para las yeguas del grupo experimental. **Pag. 36**

**Fig. 3** Concentraciones promedio de eCG en gestaciones mulares en el grupo experimental y testigo. Las diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p>0.05$ ). Las barras representan el error estándar. La franja oscura indica el periodo de tratamiento para las yeguas del grupo experimental. **Pag. 37**

**Fig. 4** Concentraciones promedio de P4 y eCG en gestaciones normales y gestaciones que terminaron en aborto en el grupo experimental. Los asteriscos indican las semanas en las cuales hay diferencia estadística. Las barras representan el error estándar. La franja oscura indica el periodo de tratamiento para las yeguas del grupo experimental. **Pag. 38**

**Fig. 5** Concentraciones promedio de P4 y eCG en gestaciones normales y gestaciones terminadas en aborto en yeguas del grupo testigo. Los asteriscos indican las semanas en las cuales hay diferencia estadística. Las barras representan el error estándar. La franja gris indica el periodo de tratamiento para las yeguas del grupo experimental. **Pag. 39**

**Fig. 6** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que sufrió aborto por deficiencia lútea secundaria a la falta de apoyo de la eCG. Las flechas indican el momento de la pérdida de gestación y la franja oscura el periodo de tratamiento con altrenogest. **Pag. 40**

**Fig. 7** Concentraciones de P4 y eCG en yegua tratada con altrenogest que terminó en aborto por deficiencia lútea secundaria. Las flechas indican el momento de la pérdida de gestación y la franja oscura el periodo de tratamiento con altrenogest. **Pag. 41**

**Fig. 8** Concentraciones de P4 y eCG en una yegua tratada con altrenogest que abortó por deficiencia lútea secundaria a una falta de apoyo de eCG. Las flechas indican el momento de la pérdida de gestación y la franja oscura el periodo de tratamiento con altrenogest. **Pag. 42**

**Fig. Fig. 9** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que sufrió aborto por luteólisis activa. Las flechas indican el momento de la pérdida de gestación y la franja oscura el periodo de tratamiento con altrenogest. **Pag. 43**

**Fig. 10** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua del grupo testigo que sufrió aborto por deficiencia lútea secundandaria. por falta de apoyo en la secreción de eCG. Las flechas indican el momento de la pérdida de gestación y la franja gris el periodo de tratamiento con altrenogest que recibio el grupo experimental. **Pag. 44**

**Fig. 11** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua del grupo testigo que sufrió aborto por deficiencia lútea secundari a falta de apoyo en la secreción de eCG. Las flechas indican el momento de la pérdida de gestación y la franja gris el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental. **Pag. 45**

**Fig. 12** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo gestación normal a pesar de tener bajas concentraciones de progesterona y eCG . La franja negra debajo de la gráfica indica el periodo de tratamiento con altrenogest. **Pag. 46**

**Fig. 13** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal a pesar de tener una fuerte caída en sus concentraciones de progesterona a partir de la semana 8. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest. **Pag. 47**

**Fig. 14** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal a pesar de tener concentraciones bajas de progesterona durante las primeras semanas del tratamiento con altrenogest. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest y Vaca es el nombre de la yegua **Pag. 48**

**Fig. 15** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal a pesar de que sus concentraciones de progesterona siempre fueron mucho más bajas que el promedio para gestaciones mulares normales. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo secundario. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest. **Pag. 49**

**Fig. 16** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest. Esta yegua no formó cuerpos lúteos suplementarios. **Pag. 50**

**Fig. 17** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest. Esta yegua no formó cuerpos lúteos suplementarios. **Pag. 51**

**Fig. 18** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal. Las concentraciones de esta yegua fueron similares a las del promedio para el grupo a pesar de secretar cantidades de eCG superiores al promedio. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest. Esta yegua no formó cuerpos lúteos suplementarios. **Pag. 52**

**Fig. 19** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal y concentraciones de progesterona y eCG superiores al promedio para el grupo. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja negra debajo de la gráfica indica el periodo de tratamiento con altrenogest. **Pag. 53**

**Fig. 20** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo gestación normal. Las concentraciones de progesterona y eCG fueron superiores a las promedio para el grupo. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo secundario. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest. **Pag. 54**

**Fig. 21** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest. **Pag. 55**

**Fig. 22** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest. **Pag. 56**

**Fig. 23** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest. **Pag. 57**

**Fig. 24** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican los momentos en que se formaron cuerpos lúteos suplementarios. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest. **Pag. 58**

**Fig. 25** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican los momentos en que se formaron cuerpos lúteos suplementarios. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest. **Pag. 59**

**Fig. 26** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican el momento en que se formaron dos cuerpos lúteos suplementarios en diferentes días pero dentro de la misma semana (día 92 y 97 de gestación). La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest. **Pag. 60**

**Fig. 27** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest. **Pag. 61**

**Fig. 28** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Esta yegua no formó cuerpos lúteos suplementarios. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest. **Pag. 62**

**Fig. 29** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest. **Pag. 63**

**Fig. 30** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest. **Pag. 64**

**Fig. 31** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal y que tuvo concentraciones de progesterona notoriamente elevadas. Los círculos indican el momento en que se formaron cuatro cuerpos lúteos suplementarios en diferentes días pero dentro de la misma semana (día 35, 40 y 79, 82 de gestación). La franja gris debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental. **Pag. 65**

**Fig. 32** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal y concentraciones de progesterona elevadas entre las semanas 5 y 10 de la gestación. Los círculos indican los momentos en que se formaron cuerpos lúteos suplementarios. La franja gris debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental. **Pag. 66**

**Fig. 33** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal y concentraciones de progesterona elevadas a partir de la semana 8 de la gestación. Los círculos indican los momentos en que se formaron cuerpos lúteos suplementarios. La franja ligeramente gris indica el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental. **Pag. 67**

**Fig. 34** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal a pesar de tener concentraciones muy bajas de progesterona después de la semana 10. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja gris debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental. **Pag. 68**

**Fig. 35** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal que tuvo concentraciones reducidas de progesterona entre las semanas 5 y 9 de la gestación. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja gris debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental. **Pag. 69**

## INTRODUCCIÓN

La mula en México ha sido el animal de trabajo más utilizado en actividades como la agricultura, ganadería, transporte y minería. Es un híbrido infértil, que para su producción requiere del cruzamiento entre Equus caballus (caballo doméstico) y Equus asinus (asno doméstico) (Allen *et al.*, 1993a).

La cruce de yegua con burro resulta en una fertilidad relativamente baja con respecto a la cruce normal de caballo con yegua (Jordáo *et al.*, 1954). Esto es debido tanto a los bajos porcentajes de concepción como a un incremento en la incidencia de abortos y mortinatos.

Inicialmente la gestación equina es mantenida principalmente por progesterona que proviene del cuerpo lúteo primario. Dicho cuerpo lúteo comienza a disminuir su función a partir del día 30 de la gestación. Sin embargo, a partir del día 35 las copas endometriales de la yegua gestante comienzan a secretar gonadotropina coriónica equina (eCG) (Allen y Stewart, 1993), la cual provoca la resurgencia del cuerpo lúteo primario y la formación y/o luteinización de cuerpos lúteos suplementarios, que también producen progesterona (Daels *et al.*, 1998).

Cuando una yegua es cruzada con asno a fin de producir un híbrido, denominado mula, las copas endometriales derivadas de las células coriónicas del embrión mula son rechazadas muy rápidamente, entre la séptima y decimoprimer semana de la gestación, por lo que las concentraciones de eCG se reducen en forma muy prematura y en ocasiones no llegan a elevarse (Allen y Short, 1997; Boeta y Zarco, 2005). Esta falta de soporte de eCG provoca que se formen pocos cuerpos lúteos suplementarios (Boeta, 2008) y las concentraciones de progesterona se mantienen muy por debajo de las encontradas durante una gestación de yegua servida con caballo (Allen y Short, 1997; Boeta y Zarco, 2005).

Se ha demostrado que muchas yeguas gestantes con embrión mula llevan su gestación a término a pesar de producir cantidades muy reducidas o indetectables de eCG (Boeta

y Zarco, 2005; Boeta, 2008), lo que sugiere que esta hormona no es indispensable para el mantenimiento de la gestación. Es importante tomar en cuenta que la secuencia de aminoácidos de la eCG es idéntica a la de la LH equina (Sherman *et al.*, 1992; Chopineau *et al.*, 1995) y que tanto la eCG como la LH actúan en el mismo receptor (Saint-Dizier *et al.*, 2003; 2004), el cual ha sido denominado receptor (eLH/CG). Por esta razón se ha sugerido que la LH hipofisiaria podría ser suficiente para mantener la función lútea en la mayoría de las yeguas gestantes, y que la eCG actuaría en forma redundante para garantizar la estimulación correcta de los cuerpos lúteos de la gestación en casos específicos en que no se produjese suficiente LH o se requiriese estimulación lútea adicional (Allen *et al.*, 1993<sup>a</sup>, 1993b; Boeta, 2008).

La administración exógena de progestágenos en yeguas gestantes ha sido utilizada para prevenir pérdidas de gestación en yeguas en las que se sospecha pueda existir una deficiencia en la función lútea (Squires, 1993b). Sin embargo, los progestágenos exógenos ejercen retroalimentación negativa sobre la LH hipofisiaria, por lo que en yeguas con niveles bajos de eCG (embrión mula), la presencia continua de un progestágeno sintético (altrenogest) podría resultar en una reducción o incluso pérdida de la función de los cuerpos lúteos de la gestación al no contar estos con el apoyo de la LH ni de la eCG. De ser así, el retiro repentino del progestágeno en este tipo de yeguas resultaría en bajos niveles de progesterona y en consecuencia el aborto.

### **1.1 OBJETIVOS:**

1. Comparar las concentraciones de progesterona durante los primeros tres meses de la gestación en yeguas servidas con asno tratadas o sin tratar con un progestágeno (altrenogest) desde el día 35 hasta el día 70 de la gestación.
2. Comparar las concentraciones de eCG durante 3 meses a partir del día 35 de gestación en yeguas servidas con asno tratadas o sin tratar con altrenogest desde el día 35 hasta el día 70 de la gestación.
3. Comparar el número de ovulaciones suplementarias presentadas durante los primeros 3 meses de la gestación en yeguas servidas con asno tratadas o sin tratar con un progestágeno (altrenogest) desde el día 35 hasta el día 70 de la gestación.
4. Comparar la incidencia de abortos en ambos grupos.
5. Determinar en cada grupo si la ocurrencia de abortos precede a una deficiencia en las concentraciones plasmáticas de progesterona.

### **1.2 HIPOTESIS:**

Las yeguas portadoras de un producto híbrido (yeguas inseminadas con asno) tratadas temporalmente con altrenogest manifestarán una inhibición de la función lútea, por lo que al retirarse repentinamente el progestágeno se producirá una deficiencia de progesterona que resultará en aborto por falta de soporte de eCG.

## **2. REVISIÓN DE LA LITERATURA**

### **1.1 FISIOLÓGÍA DE LA GESTACIÓN**

#### **2.1.1. Desarrollo embrionario temprano**

Después de la ovulación el ovocito equino permanece viable durante 6 a 12 horas mientras que los espermatozoides sobreviven en promedio 48 horas, aunque algunos pueden permanecer hasta 7 días en el aparato reproductor de la hembra. Para que ocurra la fertilización es necesario que los espermatozoides hayan sufrido la capacitación espermática durante su permanencia en el aparato genital de la hembra (Zarco y Boeta, 2000; Patrick *et al.*, 1998).

Los fluidos del oviducto contienen sustancias como piruvato, bicarbonato, aminoácidos libres, oxígeno, CO<sub>2</sub>, carbohidratos, lípidos, esteroides y factores de crecimiento, que son necesarios para la sobrevivencia del ovocito. Después de la fertilización las secreciones del oviducto interactúan con factores de crecimiento para regular y modular el desarrollo del embrión (Tovío *et al.*, 2008).

En el oviducto se llevan a cabo procesos como el transporte de los gametos, la capacitación espermática, la reacción acrosomal, la fertilización, las primeras divisiones celulares del embrión, así como su transporte regulado hacia el útero. La composición del fluido oviductal consta de dos componentes principales: a) un trasudado selectivo de moléculas y de iones provenientes del suero; b) moléculas específicas sintetizadas y secretadas por las células del oviducto, que varían en proporción y composición de acuerdo a la región anatómica donde se lleve a cabo dicha síntesis. Las moléculas crean un microambiente específico en cada región, ocurriendo interacciones celulares y moleculares entre el oviducto y los gametos o entre el oviducto y el embrión (Andaluza *et al.*, 2003).

El embrión equino entra al útero en el sexto día post ovulación, cuando se encuentra en etapa de mórula o de blastocito temprano (Ball *et al.*, 1989). Posteriormente la expansión del blastocito provoca el adelgazamiento y pérdida de la zona pelúcida (Allen y Wilsher, 2009). Alrededor del día 11 de la gestación la superficie interna del blastocele se encuentra recubierta por una capa de células de origen endodérmico que se evagina del intestino primitivo y forma el saco vitelino, con lo que el blastocito adquiere una estructura bilaminar constituida internamente por el saco vitelino de origen endodérmico y externamente por el trofoblasto de origen ectodérmico (Allen y Wilsher, 2009). De esta manera, cualquier substancia que sea transferida en forma activa o pasiva desde el fluido uterino hacia el saco vitelino, a través del trofoblasto, quedará disponible para el aparato digestivo del embrión.

A partir del día 14 de la gestación se produce una invasión de tejido mesodérmico que se infiltra entre el saco vitelino y el trofoblasto, formando una tercera capa histológica en la que se forman vasos sanguíneos que conectan al saco vitelino con el embrión. De esta forma se establece un eficiente sistema de transporte de nutrientes hacia el embrión a partir de los fluidos uterinos (Allen y Wilsher, 2009).

Doce horas después de entrada al útero, las células del blastocito comienzan a secretar glicoproteínas ricas en mucina, serina y treonina para formar una cápsula esférica, dura y elástica que recubrirá al embrión durante los próximos 20 a 25 días (Allen y Wilsher 2009). Esta cápsula tiene tres funciones fundamentales: la primera es ejercer presión interna que impida el alargamiento del trofoblasto para que se mantenga en forma esférica; la segunda, es proporcionar resistencia para soportar la tracción ejercida por las contracciones del miometrio encargadas de mover al embrión a lo largo de todo el útero; y la tercera es proporcionar una matriz que favorezca la absorción de las secreciones de las glándulas endometriales (histótrofe o leche uterina). Dichas secreciones contienen proteínas de transporte (uterocalina y uteroglobulina), que son esenciales para la absorción de nutrientes en los primeros 40 días de vida del embrión. Hacia el día 20 post ovulación la cápsula equina es reabsorbida por neutrófilos y macrófagos maternos (Allen y Wilsher, 2009).

### 2.1.2 Reconocimiento materno de gestación

El reconocimiento materno de la gestación permite que se mantenga la gestación y se continúe produciendo progesterona más allá del día en el que normalmente ocurre la regresión del cuerpo lúteo en las yeguas vacías. El término “reconocimiento materno de la gestación”, describe las distintas estrategias utilizadas por las especies animales para asegurar en los animales gestantes la continuidad de la función del cuerpo lúteo por más tiempo del que transcurre durante la fase lútea del ciclo estral de hembras no gestantes. Esto hace posible que el aparato genital de la hembra se mantenga bajo la influencia de progesterona para mantener la gestación. (Allen *et al.*, 2001<sup>a</sup>, 2001b).

Para que se lleve a cabo el reconocimiento materno de la gestación es necesario que el embrión indique su presencia a la madre mediante señales químicas, las cuales al ponerse en contacto con toda la superficie del endometrio bloquean en forma efectiva la síntesis de receptores a oxitocina, lo que impide que se establezca un patrón pulsátil de secreción de PGF2 $\alpha$  (Ginther, 1992; Starbucks *et al.*, 1998). Para ello, a partir de su entrada al útero, y durante los siguientes 10 días, el embrión equino recorre constantemente el cuerpo y cuernos uterinos, siendo impulsado por contracciones del miometrio que son estimuladas por la secreción embrionaria de prostaglandina E2 (Vanderwall *et al.*, 1993). Las contracciones del miometrio son más intensas en los sitios donde la vesícula embrionaria está en contacto con el endometrio, lo que provoca que el embrión cambie continuamente de sitio, siendo transportado hacia las diferentes regiones del cuerpo y cuernos uterinos hasta 20 veces/día (Ginther, 1984, 1998; Allen, 2001a). Esto permite que el embrión vaya secretando una señal antiluteolítica que hace contacto con toda la superficie del endometrio para evitar la secreción pulsátil de PGF2 $\alpha$  y así lograr alargar la vida del cuerpo lúteo para mantener la gestación (Ginther, 1992; Sharp, 1993).

El movimiento del embrión se interrumpe bruscamente entre el día 16 y 17 después de la ovulación, cuando el aumento del tono uterino provoca que el embrión se inmovilice en uno de los cuernos uterinos, muy cerca de la bifurcación uterina (Ginther, 1992; Allen *et al.*, 2009). A partir de este momento comenzará a establecerse una relación cada vez más estrecha entre el corion y el endometrio (Allen y Wilsher, 2009).

La señal bioquímica por la cual el embrión equino informa a la yegua de su presencia en el útero para evitar la luteólisis y mantener la gestación sigue siendo un misterio, ya que no se trata de una molécula similar al interferón tau utilizado por los rumiantes como señal antiluteolítica (Allen, 2000). Se sabe que el embrión equino tiene la capacidad de sintetizar estrógenos en grandes cantidades a partir del día 10 post ovulación (Allen, 2000). Por otra parte Haneda *et al.* (2009) encontraron que la expresión de los receptores a interleucinas-1 (IL-1RN) en el endometrio es regulada probablemente por estrógenos y progesterona, de tal forma que es posible regular la intensidad de la traducción de la señal de IL-1 en el reconocimiento de la gestación.

### **2.1.3 Fijación, orientación y membranas placentarias**

Una vez que el reconocimiento materno de la gestación ha ocurrido el embrión debe fijarse en alguno de los cuernos uterinos. Esto generalmente ocurre cerca de la bifurcación uterina, independientemente del lado en el que haya ocurrido la ovulación.. La fijación ocurre en el día 15 o 16 de la gestación y es favorecida por el aumento del diámetro del embrión y por un incremento del tono uterino que provoca una mayor resistencia al movimiento. A partir del día 16 el trofoblasto, que en ese momento ya recibe el nombre de corion, comienza a emitir unas proyecciones, llamadas pliegues amnióticos, que se fusionan alrededor del embrión formando el saco amniótico que envuelve al embrión. A partir del día 20 de gestación el embrión está completamente contenido dentro del líquido amniótico, el cual cumple funciones de protección mecánica, además de tener propiedades bacteriostáticas y lubricantes, éstas últimas de importancia durante el parto, además el feto continuamente traga líquido amniótico, lo que puede ser importante para el desarrollo del aparato digestivo. La mayor parte del líquido absorbido por el aparato digestivo del feto será filtrado por los riñones fetales, produciéndose orina que es descargada hacia la cavidad alantoidea a través del conducto del uraco (Zarco y Boeta, 2000).

El corion, por su parte, ahora forma una membrana que delimita por completo a la vesícula embrionaria. Dentro del corion, y dorsalmente al embrión, queda contenido el saco vitelino que en ese momento ocupa la mayor parte de la vesícula embrionaria (Ginther, 1992; Patrick, 1998).

Poco después de la fijación se produce la orientación de la vesícula embrionaria con respecto al sitio de inserción del mesometrio en el útero. Por esta razón, cuando el embrión comienza a ser visible con el ultrasonido (día 21 de la gestación) generalmente se encuentra localizado en la parte ventral de la vesícula. Posteriormente, y conforme se desarrolla el alantoides el embrión va siendo desplazado hacia la parte dorsal de la vesícula (Ginther, 1992).

Alrededor del día 20 comienza a formarse una evaginación del intestino posterior, la cual al crecer se proyecta hacia el exterior del embrión para formar el saco alantoideo, el cual mantiene el contacto con el interior del embrión a través de lo que posteriormente será el cordón umbilical (Zarco y Boeta, 2000). La superficie exterior del alantoides está formada por tejido mesodérmico que se vasculariza rápidamente, y hacia el día 24 o 25 el corazón del embrión hace circular cantidades significativas de sangre por el alantoides. Al ir creciendo, el alantoides va ocupando el espacio localizado por debajo del embrión, llegando a ponerse en contacto estrecho con el corion para formar el corioalantoides. Entre el día 25 y el día 33 de la gestación el alantoides va creciendo al mismo tiempo que el saco vitelino va disminuyendo de tamaño. Hacia el día 40 de la gestación el saco vitelino ha desaparecido y el embrión ha llegado al polo superior. (Ginther, 1992; Zarco y Boeta, 2000).

Hacia el día 30 de la gestación, en el sitio de unión entre el saco alantoideo en crecimiento y el saco vitelino en regresión se forma una banda de tejido avascular, denominado cinturón coriónico. A partir de esta banda se desprenden las células coriónicas que colonizarán el endometrio para formar las copas endometriales (Allen *et al.*, 1973).

La placentación en equinos es de tipo central, difuso, epiteliocorial y no invasiva, aunque las células que conforman el cinturón coriónico invaden el endometrio materno. Tanto los embriones equinos como los de burro son capaces de producir estrógenos antes de la implantación. Los embriones equinos expresan la enzima aromatasa desde el día 5 o 6 de la gestación (Heap *et al.*, 1991). La distribución de la aromatasa en las membranas placentarias antes de la implantación es diferente en embrión equino y de burro. En el embrión de burro la actividad de la aromatasa es igual en todos los tejidos embrionarios analizados (saco vitelino, cinturón coriónico y corioalantoides) mientras que en el embrión equino la actividad de aromatasa es mayor en el cinturón coriónico, intermedia en el saco vitelino y menor en el corioalantoides (Heap *et al.*, 1991).

A partir del día 40, una vez que ha comenzado la invasión del endometrio materno por parte de las células del cinturón coriónico, comienza una interacción entre las células del endometrio materno y las células no invasivas del corialantoides equino, comenzando la formación de microvellosidades tanto del lado materno como del lado fetal. En la interfase materno-fetal se proyectan microvellosidades del corialantoides en forma de dedos, que se ramifican y alargan hacia la superficie del endometrio, en el cual también se están formando microvellosidades. Para el día 60 los componentes maternos y fetales se han interdigitado en forma estrecha, comenzando una extensa ramificación. Tanto las microvellosidades del lado materno como las del lado fetal están profundamente irrigadas por una amplia red capilar, por lo que hacia el día 120 de la gestación se han formado verdaderos microplacentomas en toda la superficie de la placenta, con microcotiledones del lado embrionario y microcarúnculas del lado materno, lo que permite un extenso intercambio de gases, nutrientes y desechos entre la circulación materna y la circulación fetal (Allen, 2001a; Allen y Wishler, 2009).

#### **2.1.4 Desarrollo del cuerpo lúteo primario**

El cuerpo lúteo es un tejido complejo formado por células esteroideogénicas pequeñas y grandes, así como por células no esteroideogénicas, tales como fibroblastos, células endoteliales y células inmunes (Webb *et al.*, 2002). La función principal del cuerpo lúteo es secretar la progesterona que mantiene la gestación (Allen, 1984; 2001b; Ginther, 1992). La hormona luteinizante (LH) secretada por la hipófisis anterior es fundamental para el desarrollo y funcionamiento normal del cuerpo lúteo, aunque en algunas especies también participan la hormona del crecimiento, la prolactina y el estradiol.

En la yegua gestante la FSH hipofisiaria es la hormona responsable de estimular el crecimiento folicular para el desarrollo del cuerpo lúteo primario y los cuerpos lúteos secundarios y/o accesorios. Cuando un folículo llega a un grado de desarrollo suficiente para producir elevadas concentraciones de estradiol capaces de estimular la elevación preovulatoria de LH se produce la ovulación y la formación del cuerpo lúteo primario, constituido inicialmente por células de la granulosa que se diferencian en células lúteas grandes y por células de la teca que se diferencian en células lúteas chicas (Webb *et al.*, 2002).

Al producirse la ovulación se pierde una proporción importante del líquido que estaba contenido en el folículo. El líquido restante, mezclado con sangre emanada de capilares de la pared folicular que se rompen durante la ovulación, será colonizado por células de la granulosa y de la teca interna, formando el cuerpo hemorrágico, el cual gradualmente se transformará en un cuerpo lúteo. El cuerpo lúteo primario se forma en el sitio de la ovulación a partir de la cual se originó la gestación y es mantenido hasta el día 160 a 180 de la gestación. Durante todo este periodo produce progesterona para colaborar en el mantenimiento de la gestación (Squires *et al.*, 1974a). La morfología de esta glándula temporal no siempre es igual, ya que del 30 al 50% de los cuerpos lúteos se desarrollan uniformemente sin la formación de un cuerpo hemorrágico, mientras que del 50 al 70% de los cuerpos lúteos acumulan fluido dentro de la cavidad antral y forman un cuerpo hemorrágico (Bergfelt y Adams, 2007).

En la yegua gestante el mantenimiento del cuerpo lúteo primario es indispensable durante los primeros 70-100 días de la gestación, reduciéndose posteriormente su importancia porque la unidad feto-placentaria gradualmente comienza a secretar progestágenos capaces de mantener la gestación en ausencia de cuerpos lúteos (Holtan *et al.*, 1975, 1979).

La alta afinidad de la LH por sus receptores en las células lúteas permite que el cuerpo lúteo se mantenga activo pese a las bajas concentraciones de LH circulante durante el diestro y las primeras semanas de la gestación (Bergfelt y Adams, 2007).

#### **2.1.5 Desarrollo de cuerpos lúteos secundarios y/o accesorios**

Los cuerpos lúteos secundarios y accesorios se forman debido a las oleadas de FSH que ocurren cada 10 a 12 días durante la gestación, estimulando el crecimiento folicular (Allen, 1984). A partir del día 35 de la gestación, la presencia de eCG estimula la ovulación o la luteinización de algunos de los folículos dominantes formados en diversas oleadas (Allen y Stewart, 2001).

Las yeguas gestantes mantienen oleadas foliculares similares a las que ocurren durante la fase lútea del ciclo. Por ello entre el día 19 y 23 de la gestación, se desarrollan folículos dominantes que generalmente no llegan a ovular y terminan sufriendo atresia debido a que las concentraciones séricas de progesterona inhiben la elevación preovulatoria de LH. Las oleadas foliculares continúan presentándose a intervalos de 10 a 12 días debido a la secreción hipofisiaria de la FSH que es liberada en forma rítmica sin importar si la yegua está gestante o continúa ciclando, ya que la secreción de esta hormona no es inhibida por la progesterona (Allen, 1984).

A partir del día 35 de la gestación las copas endometriales de la yegua gestante comienzan a secretar eCG y ésta actúa como LH, provocando la ovulación y luteinización de los folículos dominantes (Allen, 1984). Tanto el cuerpo lúteo primario como los que se forman posteriormente durante la gestación (cuerpos lúteos suplementarios) se mantienen estimulados por la acción luteotrópica de la eCG (Allen y Steward, 1993). Cuando un cuerpo lúteo suplementario se forma a partir de un folículo que ovula se le llama cuerpo lúteo secundario. En cambio, si el cuerpo lúteo suplementario se forma a partir de la luteinización de un folículo anovulatorio recibirá el nombre de cuerpo lúteo accesorio. Desde el punto de vista funcional ambos tipos de cuerpo lúteo suplementario producen cantidades similares de progesterona, por lo que no es indispensable diferenciarlos (Bergfelt y Adams, 2007).

El primer cuerpo lúteo secundario se forma pocos días después de que comienza la secreción de eCG (entre los 40 y 60 días) y en etapas posteriores se pueden formar cuerpos lúteos accesorios adicionales que producen cantidades considerables de progesterona (Bergfelt y Adams, 2007). Por otra parte, al elevarse las concentraciones de eCG a partir del día 35 se produce una estimulación del cuerpo lúteo primario, el cual aumenta su producción de progesterona. (Bergfelt y Adams, 2007). Este cuerpo lúteo primario continuará funcionando hasta el día 120 o 150, por lo que los cuerpos lúteos suplementarios no reemplazan al primario de la gestación como fuente de progesterona, sino que actúan como una fuente suplementaria del progestágeno (Squires y Ginther, 1975b). Tanto el cuerpo lúteo primario como todos los suplementarios sufren regresión aproximadamente al mismo tiempo durante el quinto mes de la gestación (Holtan *et al.*, 1979).

Como ya se mencionó, se piensa que la FSH estimula el crecimiento de los folículos mientras que la acción de la LH y eCG inducen el desarrollo final del folículo maduro para que ocurra la ovulación. Se ha propuesto que el fotoperiodo puede modificar la actividad ovárica durante la gestación debido a sus efectos sobre la secreción de gonadotropinas hipofisarias, ya que en yeguas que conciben al final de la época ovulatoria en las que los primeros meses de la gestación transcurren durante la época anovulatoria se forma un menor número de cuerpos lúteos suplementarios a pesar que la secreción de eCG no es influenciada por la época del año (Allen, 1982; Allen, 1984).

No todas las yeguas gestantes desarrollan cuerpos lúteos secundarios y/o accesorios, lo que sugiere que no son indispensables para la gestación equina. Además, en las yeguas en las que si se forman cuerpos lúteos suplementarios existe una marcada variación tanto en el tiempo de su formación como en el número que se desarrolla durante la gestación (Allen y Stewart, 1993).

Generalmente se ha asumido que la eCG es necesaria para el desarrollo normal de los cuerpos lúteos suplementarios. Sin embargo se ha demostrado que la gestación puede continuar hasta su término en yeguas que no secretan eCG ni forman cuerpos lúteos suplementarios (Allen, 2001; Boeta y Zarco, 2005). Esto se debe a que la progesterona producida por los cuerpos lúteos suplementarios no sustituye a la producida por el cuerpo lúteo primario. Por esta razón se ha postulado que la función de los cuerpos lúteos accesorios podría ser la de asegurar una fuente extra de progesterona en caso de una regresión prematura del cuerpo lúteo primario (Allen, 2001).

#### **2.1.6 Papel de la progesterona durante la gestación**

La importancia de la progesterona (P<sub>4</sub>) para el mantenimiento de la gestación ha sido bien establecida en todas las especies. Esta hormona actúa en el útero estimulando y manteniendo las funciones necesarias para el desarrollo embrionario temprano, la implantación, la placentación y el desarrollo fetal. La síntesis de proteínas uterinas necesarias para el desarrollo embrionario temprano es estimulada principalmente por la P<sub>4</sub>, la cual es responsable de cambios cualitativos y cuantitativos en el medio ambiente

uterino, controlando la síntesis y secreción de por lo menos 10 proteínas. Por ello para mantener la gestación se requiere mantener en forma constante altos niveles de progesterona (Squires *et al.*, 1974b), por lo que su deficiencia pone en riesgo el crecimiento, mantenimiento y supervivencia del producto, contribuyendo a aumentar los porcentajes de mortalidad embrionaria (ME) (Tovío *et al.*, 2008).

La señal principal para iniciar la síntesis de hormonas esteroides en las células esteroidogénicas del ovario es la unión de la LH a sus receptores específicos en la membrana celular, lo que estimula la utilización de colesterol para su sucesiva conversión en pregnenolona y progesterona (Belin *et al.*, 2000).

En la yegua la secreción de progesterona aumenta de manera muy rápida entre el día 0 (ovulación) y el día 1 (Gastal *et al.*, 2005), continuando en aumento hasta el día 8 post-ovulación, cuando llega a 7 o más ng/ml. A partir de ese momento se estabilizan las concentraciones, comenzando a disminuir alrededor del día 13 o 14 en yeguas no gestantes debido a la regresión del cuerpo lúteo (Bergfelt y Adams, 2007). En la yegua gestante el cuerpo lúteo permanece activo más allá del día 13, manteniendo niveles de P<sub>4</sub> por arriba de los 10 ng/ml hasta el día 30 aproximadamente. Durante este primer mes de la gestación la producción de progesterona por el cuerpo lúteo es mantenida por la secreción de LH hipofisaria, por lo que existe una correlación positiva entre las concentraciones de LH y las de progesterona entre el día 5 y 24 de la gestación (Belin *et al.*, 2000). Alrededor del día 30 ocurre una disminución en la función lútea para posteriormente aumentar entre los días 32 y 44 de la gestación debido a la estimulación lútea ejercida por la eCG (Squires *et al.*, 1974b; Murphy y Martinuk, 1991), la progesterona llega a su máximo pico de secreción en el día 80 (15 o más ng/ml) para después disminuir y desaparecer de la circulación materna entre los días 150-180 de la gestación (Allen *et al.*, 1973).

A partir del día 120 de la gestación todos los cuerpos lúteos han sufrido regresión por lo que desaparecen como fuente de progesterona. Sin embargo, la gestación se mantiene porque la placenta adquiere la capacidad de producir cantidades suficientes de progesterona. Aunque la progesterona de origen placentario es metabolizada en la propia placenta antes de pasar a la circulación materna, por lo que durante la segunda

mitad de la gestación equina no es posible encontrar progesterona circulante en la yegua, si no solamente metabolitos como la dihidroprogesterona (5 $\alpha$  DHP) y 20 $\alpha$ -dihroxy-5- pregnanos (Holtan *et al.*, 1979).

La eCG producida por las copas endometriales de la yegua tienen un importante papel luteotrópico entre el día 35 y el día 150 de la gestación equina. Como ya se mencionó, el incremento de las concentraciones de progesterona que ocurre a partir de que se inicia la secreción de eCG (día 35) se atribuye tanto al resurgimiento de cuerpo lúteo primario como a la formación y desarrollo de cuerpos lúteos suplementarios (Bergfelt *et al.*, 1989).

En el caso de yeguas servidas con burro, la destrucción prematura de las copas endometriales provoca una caída muy rápida en las concentraciones de eCG, lo que tiene como consecuencia una producción de progesterona significativamente menor a la de las yeguas servidas con caballo desde el segundo mes de la gestación (Allen y Stewart, 1993; Boeta y Zarco, 2005). Esto podría ser la causa de un cierto número de pérdidas de la gestación en las yeguas utilizadas para la producción de mulas, especialmente cuando la regresión prematura de las copas endometriales resulta en concentraciones excesivamente bajas de eCG y progesterona para mantener la gestación (Boeta y Zarco, 2010).

## **2.2 LAS COPAS ENDOMETRIALES Y LA SECRECIÓN DE eCG**

### **2.2.1 Formación, desarrollo y destrucción de las copas endometriales**

El trofoblasto equino está claramente dividido en dos componentes; uno de carácter invasivo, y otro no invasivo (Allen, 2001a). Alrededor del día 25 de la gestación equina aparece en la superficie del trofoblasto una banda delgada de tejido blanquecino que lo rodea a la altura del sitio de contacto entre el saco vitelino en regresión y el alantoides en crecimiento. Esta banda, llamada cinturón coriónico, está formada por células binucleadas hiperplásicas, que entre el día 36 y 38 crecen, se multiplican y adquieren movimiento amiboideo, desprendiéndose del corión e invadiendo el endometrio

materno, para lo cual secretan proteinasas de tipo metalo-proteínas que les ayuda a atacar la matriz extracelular para insertarse en el endometrio (Roser, 1999). El carácter agresivo e invasivo de las células binucleadas les permite migrar hacia el interior de las glándulas endometriales, donde proliferan hasta formar estructuras macroscópicas denominadas copas endometriales, las cuales secretan eCG en forma constitutiva, sin requerir el estímulo de hormonas como la GnRH (Allen, 2000; Thompson, 1982).

El cinturón coriónico puede reconocerse histológicamente por primera vez alrededor del día 25 de la gestación, cuando se observa como una serie de pliegues simples en el trofoblasto. Las células en los extremos de los pliegues se multiplican rápidamente, de manera que hacia el día 32 forman elevaciones que tienden a ser apretadas y aplanadas en la superficie apical debido a la expansión del embrión y el tono del miometrio. Los canales entre los pliegues adyacentes tienen la apariencia de estructuras glandulares y parecen ser la fuente de un material secretor que se acumula entre el cinturón coriónico y el endometrio entre los días 35 y 37 de la gestación, cuando las células del cinturón invaden el endometrio (Allen y Wilsher, 2009).

En el día 35 el alantocorion contiene alrededor de dos tercios del volumen del embrión y el cinturón coriónico ahora es claramente visible como una banda pálida y gruesa de aproximadamente 1-1.5 cm de ancho. Su discontinuidad o apariencia descamada indica su madurez y la disposición para invadir el endometrio. Después de su migración para invadir el endometrio, alrededor del día 40-42 las células binucleadas se inmovilizan, agrupándose y multiplicándose para formar protuberancias en forma de círculo o herradura alargada que tienen un diámetro promedio de 1 a 3 cm, aunque pueden formarse copas endometriales de hasta 20 cm de longitud. Las diferencias entre individuos y entre copas endometriales del mismo animal tiene que ver con la relación espacial entre el endometrio y el embrión, con la compatibilidad inmunológica entre los tejidos del embrión y los de la madre, así como con el grado de tono del miometrio al momento de la invasión (Allen y Wilsher, 2009).

Al tratarse de células embrionarias con una composición genética distinta a la de la madre, la invasión de células del cinturón coriónico provoca desde el principio una reacción inflamatoria, por lo que entre el día 36 y 38 se acumula un número significativo de linfocitos en el estroma subepitelial del endometrio. Esto se debe a que las células invasivas del cinturón coriónico expresan en su superficie antígenos paternos del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (MHC-I), los cuales estimulan una respuesta humoral fuerte por parte de la madre (Allen, 1982), lo que ocurre de manera semejante en todas las yeguas, incluyendo las primíparas (Donaldson *et al.*, 1992).

La expresión de el MHC-I comienza desde antes de que las células invadan al endometrio (Donaldson *et al.*, 1990). Entre los días 37 y 42, se acumulan linfocitos alrededor de las copas endometriales, pero el número disminuye rápidamente debido a la creciente pérdida de expresión de los antígenos MHC-I por las células del cinturón coriónico después de la invasión al endometrio. Sin embargo, entre los 50 y 60 días de la gestación se reactiva la expresión de los antígenos MHC-I, por lo que los linfocitos comienzan a reunirse de nuevo (Allen y Wilsher, 2009).

Entre el día 60 y 70 de la gestación las copas endometriales son aún plenamente funcionales a pesar de la presencia de inmunidad celular, compuesta en su mayoría por linfocitos T y algunos macrófagos. Durante esta etapa de la gestación las copas endometriales permanecen fuertemente unidas al endometrio, secretando grandes cantidades de eCG a la circulación periférica (Allen *et al.*, 1993). Conforme avanza la gestación comienzan a reunirse más células del sistema inmune, incrementándose el número de linfocitos B, células plasmáticas y eosinófilos en el estroma endometrial y en la periferia de la copa. Entre el día 70 a 80 de la gestación las células de las copas endometriales comienzan a degenerarse debido a que los leucocitos comienzan a invadirlas y a destruirlas. Tanto los cambios degenerativos progresivos como la acumulación de células necróticas en la superficie de la copa comienzan a distender la glándula endometrial. Cuando esto sucede se produce la descamación de la parte apical de la copa, lo que libera una secreción exócrina que atrae a los linfocitos acumulados, que se mueven hacia la periferia y la base de la copa para destruirla. Finalmente el tejido muerto se va hacia la superficie del endometrio y deja cicatrices tanto en éste como en la superficie del alantocorion. En una gestación normal de

caballo con yegua la reacción inmune termina desintegrando totalmente las copas endometriales hacia los días 140 a 160 de la gestación. (Allen *et al.*, 1973; 1993a; 1993b; Allen y Wilsher, 2009).

La respuesta humoral y celular que la madre dirige en contra de los antígenos de histocompatibilidad presentes en las copas endometriales no compromete la gestación (Roser, 1999; Allen *et al.*, 1993a), ya que no afecta a la placenta ni al producto. La reacción inmune solamente ocurre a nivel de las copas endometriales a pesar de que tanto la placenta como el embrión poseen antígenos paternos de histocompatibilidad tipo I (MHC-I). El mecanismo por el cual la unidad feto-placentaria evade el ataque del sistema inmune de la madre depende de la naturaleza inmune del trofoblasto, que es el tejido que forma la primera barrera entre la madre y el feto. El útero gestante ha sido descrito como un sitio inmunológicamente privilegiado, en el cual el feto antigénicamente extraño es protegido de la respuesta inmune materna (Allen, 1982) mediante un mecanismo inmunomodulador que impide que la respuesta inmune en contra de las copas endometriales se haga extensiva al resto del embrión (Adams y Antczak, 2001).

En las gestaciones híbridas entre diferentes especies de équidos se producen alteraciones que resultan en importantes diferencias en la formación, mantenimiento y destrucción de las copas endometriales. La diferencia entre la cantidad de eCG y progesterona secretadas en las gestaciones híbridas depende del tipo de copas endometriales que se formen. En el caso de gestación intraespecífica entre yegua y caballo los leucocitos empiezan a invadir la copa endometrial y a destruir sus células a partir del día 80 de la gestación, mientras que en las gestaciones híbridas de burro con yegua los leucocitos de la yegua comienzan a atacar a las células endometriales desde el día 50 de la gestación (Allen, 1984), por lo que para el día 60 o 70 han sido completamente destruidas. Sin embargo, esta regresión prematura de las copas endometriales no necesariamente afecta la gestación, ya que se ha encontrado que yeguas servidas con burro han llevado su gestación a término de forma normal a pesar de que sus concentraciones de eCG se mantienen muy reducidas, o incluso permanecen basales a lo largo de toda la gestación (Boeta y Zarco, 2010).

La magnitud y velocidad del rechazo inmunológico de las copas endometriales están relacionadas con las diferencias genéticas entre los antígenos de la madre y los del padre. La cruce experimental entre gemelos de diferente sexo resultó en una gestación en la que no se produjo el rechazo inmunológico de las copas endometriales, por lo que la eCG permanecía detectable en la circulación hasta el día 230 o 265 de gestación (Spincemaille *et al.*, 1975). Esto se debe a que en el equino entre los gemelos de distinto sexo, aunque no son gemelos idénticos, se produce un intercambio de células durante la gestación, produciéndose incorporación de células del hermano gemelo en diversos tejidos en etapas que permiten su reconocimiento como células propias por el sistema inmune del feto.

La transferencia de un embrión equino a una burra resulta en el desarrollo adecuado del cinturón coriónico y en la formación de copas endometriales grandes y activas. En contraste, si se transfiere un embrión burro a una yegua el desarrollo de las copas endometriales es defectuoso, ya que las células del corion del embrión burro fracasan en su objetivo de invadir el endometrio materno en los días 36 a 38, por lo que se forman copas endometriales pequeñas y poco activas (Allen, 1982; Allen *et al.*, 1987; Allen y Stewart, 2001). Esto es seguido por una implantación inadecuada, y generalmente se produce el aborto antes del día 100 de la gestación. Aparentemente el útero equino inhibe el desarrollo de las copas endometriales de cualquier embrión con genotipo burro, mientras que el útero de la burra permite el desarrollo de las copas endometriales de cualquier embrión con genotipo caballo, por lo que se piensa que el útero de burra es más permisible que el útero de la yegua en términos de aceptar gestaciones inter y extraespecie. (Allen *et al.*, 1993<sup>a</sup>; 1993<sup>b</sup>).

El mecanismo por el cual la unidad feto-placentaria evade el ataque del sistema inmune de la madre parece girar en torno a tres puntos: 1) la capacidad inmune del útero; 2) la influencia de la gestación en el sistema inmune de la madre y 3) la naturaleza inmune del trofoblasto. Las células trofoblásticas que rodean al feto y mantienen contacto con la madre desempeñan un papel importante en la protección del feto contra un ataque del sistema inmune de la madre durante la gestación (Adams y Antczak, 2001).

### 2.2.2 Gonadotropina Coriónica Equina (eCG)

Los primeros investigadores en descubrir la existencia de la eCG fueron Harold Cole y George Hart de la Universidad de California en Davis, los cuales le dieron originalmente el nombre de PMSG (gonadotropina sérica de yegua gestante) y demostraron que se produce en las copas endometriales de la yegua gestante (Roser,1999). Posteriormente, William Allen y colaboradores descubrieron que las copas endometriales se originan a partir de células coriónicas que invaden el endometrio y proliferan hasta formar las copas endometriales. Por ésta razón Harold Papkoff y sus colaboradores propusieron cambiar el nombre de PMSG a eCG, en reconocimiento al hecho de que es producida por células del corion (Roser, 1999; Stewart *et al.*, 1995).

La eCG pertenece a la familia de las hormonas glicoprotéicas, que incluye a la LH, la FSH, la hormona estimulante de la tiroides (TSH) y la gonadotropina coriónica humana (hCG). La LH, FSH y TSH son producidas en la adenohipófisis, mientras que la eCG y la hCG son producidas en células de origen coriónico de la placenta (Allen, 2001a).

La eCG es una glicoproteína de alto peso molecular similar a la LH. Se caracteriza por su alto contenido de carbohidratos, que es el más alto entre todas las hormonas glicoprotéicas, lo que permite que persista más tiempo en la circulación (Manzella *et al.*, 1995).

En especies distintas a los équidos la eCG tiene la capacidad de producir efectos tanto de FSH como de LH (Stewart *et al.*, 1976). Por esta razón y por ser fácil su obtención a partir de suero de yeguas gestantes, ha sido ampliamente utilizada en forma comercial como un potente inductor de la superovulación en otras especies.

La eCG es una hormona glicoprotéica heterodimérica constituida por dos cadenas polipeptídicas (subunidad  $\alpha$  y  $\beta$ ) unidas de manera no covalente. La secuencia de aminoácidos es idéntica a la de la LH equina, por lo que ambas hormonas se unen al receptor de LH/eCG (eLH-CG-R) en los tejidos equinos (Stewart y Allen, 1979; Legardinier *et al.*, 2005a). La subunidad  $\alpha$  es común para todas las hormonas

glicoprotéicas de una determinada especie debido a que es codificada por un solo gen, mientras que la subunidad  $\beta$  es específica para cada hormona y le confiere especificidad biológica a cada una de ellas. Las subunidades  $\beta$  están codificadas por genes distintos para cada hormona de una determinada especie, aunque son genes que han evolucionado a partir de un gen ancestral común, por lo que tienen una cierta homología de secuencia (Chopineau *et al.*, 1995; Roser, 1999).

En el caso de la eCG y la LH equina, sus subunidades  $\beta$  son codificadas por un mismo gen expresado en tejidos diferentes, por lo que al expresarse los genes de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  en la hipófisis se produce LH, mientras que al expresarse en las células de la placenta se produce eCG debido a que en cada uno de estos tejidos se produce un patrón diferente de glicosilación de las cadenas polipeptídicas (Murphy y Martinuk, 1991; Sherman *et al.*, 1992; Chopineau *et al.*, 1995; Legardinier *et al.*, 2005a)

Existe una diferencia importante en la afinidad de ambas hormonas por el receptor LH/eCG, por lo que la eCG es mucho menos potente que la LH. La diferencia de afinidad se debe a las diferencias en el complemento de carbohidratos de ambas hormonas, con el resultado de que la eCG, esta hormona tiene menos afinidad por los receptores que la LH. También se sabe que por el alto contenido de ácido siálico de la subunidad  $\beta$  de la eCG tiene una vida media más larga que la LH en la circulación materna (Martinuck *et al.*, 1991). Como resultado las concentraciones circulantes de eCG durante los días 35 a 120 de la gestación equina son cientos o miles de veces más elevadas que las de la LH, lo que compensa su reducida afinidad por los receptores (Roser, 1999).

La LH equina es removida de la circulación sistémica mucho más rápidamente que la eCG debido a que sus carbohidratos tienen una terminación SO<sub>4</sub>-4GalNAc, lo cual hace que los receptores de las células endoteliales hepáticas se unan a la LH, retirándola de la circulación y reduciendo su vida media. En cambio, los carbohidratos de la eCG tienen una terminación Sia $\alpha$ 2, 3Gal lo que le permite tener una vida media mucho más larga que la de la LH (Smith *et al.*, 1993).

### 2.2.3 Papel de la eCG durante la gestación

Se considera que la función de la eCG es la de formar y mantener los cuerpos lúteos secundarios y/o accesorios que aparecen a partir del día 40 de la gestación como resultado de la luteinización de folículos ováricos (Ginther, 1992). Los folículos a partir de los cuales se forman los primeros cuerpos lúteos secundarios, alrededor del día 40 de la gestación, son reclutados y seleccionados antes de que ocurra la invasión del endometrio por las células del cinturón coriónico, por lo que la foliculogénesis es independiente de la eCG, la cual solamente se requiere para provocar la ovulación y/o luteinización de dichos folículos (Allen, 1982).

Las elevaciones en las concentraciones de progesterona que se producen en la yegua a partir del día 35 de la gestación, antes de que hayan formado cuerpos lúteos secundarios, están fuertemente asociadas al inicio de la secreción de eCG (Stewart y Allen, 1981), lo que sugiere un papel luteotrópico de la eCG equina sobre el cuerpo lúteo primario y no solamente sobre los secundarios. En apoyo a esta hipótesis, la eCG estimula *in vitro* a la producción de progesterona tanto por parte de cuerpos lúteos primarios como de cuerpos lúteos suplementarios (Squires *et al.*, 1979).

Durante los primeros 40 días de la gestación el cuerpo lúteo primario es mantenido por la LH hipofisaria, mientras que en etapas posteriores es estimulado por la eCG. Sin embargo, en la yegua el cuerpo lúteo primario tiene la capacidad de mantenerse sin apoyo de eCG hasta por 80 días después de haber ocurrido el reconocimiento de gestación, con o sin la presencia de un producto vivo (Allen, 2001). Asimismo, se ha demostrado que la LH hipofisaria puede, por si misma, mantener la función del cuerpo lúteo primario sin necesidad de eCG. Así, en yeguas a las que se les ha transferido un embrión burro, y que por lo tanto no producen eCG, el cuerpo lúteo primario se mantiene funcionando durante los primeros tres meses de la gestación (Allen, 1982).

Como se mencionó en secciones anteriores, en una gestación normal, resultado de la cruce de un caballo con una yegua, las copas endometriales producen eCG y estimulan la función lútea desde el día 35-40, produciendo altas concentraciones de eCG (80-200 UI/ml), hasta el día 120-150 de la gestación, cuando son rechazadas inmunológicamente

por la madre (Allen, 2001). Por otra parte, cuando una yegua es cruzada con burro con el objeto de producir una mula, las copas endometriales derivadas de las células coriónicas del embrión mula son rechazadas muy rápidamente, entre la séptima y decimoprimer semana, por lo que las concentraciones de eCG son bajas (5-40 UI/ml) y en ocasiones no llegan a elevarse (Boeta y Zarco, 2010). Esta falta de soporte gonadotrópico provoca que se formen pocos cuerpos lúteos secundarios y/o accesorios y que las concentraciones de progesterona se mantengan muy por debajo de las encontradas durante una gestación de yeguas servidas con caballo (Allen, 2001; Boeta y Zarco, 2005), lo que puede resultar en el aborto del feto mula (Boeta y Zarco, 2010).

En estudios diseñados para evaluar esta hipótesis se ha encontrado que efectivamente, las bajas concentraciones de eCG y su pronto retorno a niveles basales en yeguas gestantes con un embrión mula, resultan en una función lútea reducida, produciéndose una incidencia de mortalidad embrionaria significativamente mayor a la obtenida en yeguas servidas con caballo. (Allen, 2001a; Boeta y Zarco, 200; Boeta, 2008).

Sin embargo, como ya se mencionó, también se ha demostrado que muchas yeguas gestantes con producto mula llevan su gestación a término a pesar de tener concentraciones muy bajas o indetectables de eCG (Boeta y Zarco, 2005; 2010), por lo que se puede postular que la eCG producida por las copas endometriales tiene efectos redundantes con los de la LH, y que la función de la eCG podría ser la de servir como "seguro" para garantizar la correcta estimulación del cuerpo lúteo (Allen, 2001b).

Por otra parte, debe recordarse que la yegua es una especie con estacionalidad reproductiva, en la que la secreción hipofisiaria de LH sufre una fuerte inhibición durante la época no reproductiva. Por esta razón, si una yegua queda gestante hacia el final de la época reproductiva, la primera parte de la gestación transcurrirá durante la época de inactividad ovárica, cuando las concentraciones de gonadotropinas principalmente LH se encuentran inhibidas y probablemente se desarrollarán menos cuerpos lúteos suplementarios que los que se desarrollan en una gestación que transcurre en plena época reproductiva. Por ello, es posible que sea precisamente en estos casos cuando la eCG cumpla su papel, ya que su producción y secreción no están sujetas a un control estacional. Así la eCG podría haber evolucionado con el objeto de sustituir a la LH

hipofisiaria cuando la concepción se produce al final de la época reproductiva, o bien para mantener los niveles de progesterona en caso de existir factores externos o internos que pongan en peligro la integridad del cuerpo lúteo primario. De esta manera, aunque la progesterona producida por los cuerpos lúteos secundarios y/o accesorios no es indispensable para el mantenimiento de la gestación, pero si constituyen una fuente extra de progesterona en caso de una regresión prematura del cuerpo lúteo primario (Allen, 2001a).

### **2.3 GESTACIÓN HIBRIDA**

La gestación mular es producida por el cruzamiento entre una hembra de Equus caballus (caballo doméstico) y un macho de Equus asinus (asno doméstico). Este tipo de gestación se ha tomado como modelo para estudiar el papel de la eCG durante la gestación equina (Boeta y Zarco, 2005; 2010). Las copas endometriales derivadas de las células coriónicas del embrión mula son rechazadas muy rápidamente, entre la séptima y decimoprimer semana (70 días de gestación aproximadamente), por lo que las concentraciones de eCG se reducen en forma muy prematura o en ocasiones ni siquiera llegan a elevarse. Esta falta de soporte gonadotrópico provoca que no se formen o se formen pocos cuerpos lúteos suplementarios y que las concentraciones de progesterona se mantengan muy por debajo de las encontradas durante una gestación de yegua servida con caballo (Boeta y Zarco, 2005; Boeta, 2008). La reacción inmunitaria en contra de las copas endometriales en este tipo de gestación, se caracteriza desde el principio por una infiltración masiva de linfocitos alrededor de las copas endometriales, lo que interfiere con la formación normal de las mismas y resulta en un rechazo inmunológico prematuro (Allen, 2001a).

La eficiencia reproductiva obtenida al cruzar yeguas con burros es menor que la obtenida de la cruce de yeguas con caballos. Se ha postulado que una posible causa de esta baja fertilidad es la escasa producción de eCG en las yeguas con gestación mular debida al desarrollo inadecuado y al rechazo prematuro de las copas endometriales en este tipo de gestación (Allen, 2001). Boeta y Zarco (2005), encontraron una mayor incidencia de abortos en yeguas gestantes con embrión mula que en gestantes con embrión caballo. Sin embargo, no encontraron una clara relación

entre la mortalidad fetal y la falta de eCG, ya que las yeguas que abortaron embriones mula tuvieron niveles de eCG y progesterona semejantes que los de las yeguas que llevaron embriones mula a término. En dicho estudio observaron que el umbral de progesterona necesario para mantener la gestación es considerablemente bajo, por lo que la gestación puede continuar a pesar de la ausencia de eCG (Boeta y Zarco, 2005; Boeta, 2008). Sin embargo, en un estudio posterior, los mismos autores identificaron situaciones en las que la deficiencia de eCG parece contribuir a la mayor incidencia de abortos en yeguas con embrión mula (Boeta y Zarco, 2010).

En la mayoría de las yeguas gestantes con embrión mula las concentraciones de progesterona permanecen relativamente constantes alrededor de 3 a 10 ng/ml, disminuyendo lentamente entre los 40 y 80 días de gestación, lo que sugiere que la eCG no es necesaria para mantener la función del cuerpo lúteo primario de la gestación (Boeta y Zarco, 2005). Sin embargo, la ausencia del incremento típico de las concentraciones de progesterona que se produce después del día 35 en gestaciones equinas indica que la falta de eCG en gestaciones mulares no provoca la resurgencia del cuerpo lúteo primario. Adicionalmente, las yeguas con gestación mular desarrollan mucho menos cuerpos lúteos suplementarios que las yeguas con gestación equina debido a la falla en la secreción de eCG por parte de las copas endometriales (Boeta, 2008). Sin embargo, en la mayoría de las yeguas con gestación mular se alcanza a formar un cuerpo lúteo suplementario durante el corto periodo en que la eCG se eleva ligeramente en este tipo de gestación (Boeta, 2008), lo que sugiere que se requieren niveles muy bajos de eCG para la formación de cuerpos lúteos secundarios y/o accesorios al inicio de la gestación equina.

## 2.4 PERDIDA DE LA GESTACIÓN

La gestación de la yegua tiene una duración aproximada de 325-345 días. La etapa embrionaria termina alrededor del día 40 de la gestación, cuando se ha completado la organogénesis y la transición de una placenta vitelina a una placenta corioalantoidea, por lo que se considera que se ha pasado ya a la etapa fetal. Por lo tanto se denomina mortalidad embrionaria a la pérdida del producto antes de los 40 días de gestación, y se le llama muerte fetal o aborto cuando sucede después de este periodo (Patrick *et al.*, 1998).

La pérdida de gestación por mortalidad embrionaria temprana representa una pérdida económica considerable en la industria equina, aumentando los costos de mantenimiento de yeguas de cría y disminuyendo la producción de potros. Los factores que pueden contribuir a la mortalidad embrionaria se han clasificado como intrínsecos y extrínsecos. Los primeros, atribuibles a la madre, incluyen insuficiencia en la producción de progesterona por parte de la madre, monta en el calor del potro y la edad avanzada de la madre, así como la presencia de endometritis aguda, endometritis crónica o quistes endometriales (Vanderwall, 2008). Los atribuibles al embrión son las anomalías genéticas y cromosómicas, los factores inmunogenéticos y el retardo en el crecimiento del embrión (Zaby, 1994). Los factores extrínsecos incluyen estrés, nutrición inadecuada, época del año desfavorable, inseminación post-ovulación, las técnicas de reproducción asistida, factores iatrogénicos (palpación rectal, ultrasonografía), y el uso de un semental o semen de fertilidad baja (Vanderwall, 2008).

El aborto consiste en la expulsión de un feto muerto o un feto no viable después del día 40 de la gestación. Es necesario considerar que la muerte del feto puede ocurrir varios días antes de su expulsión, y que en algunos casos poco frecuentes un feto muerto puede no ser expulsado y sufrir momificación o maceración (Patrick *et al.*, 1998).

La gestación gemelar es la causa más común de aborto no infeccioso en la yegua. Además existen diversas etiologías infecciosas, incluyendo hongos, bacterias y virus que específicamente causan aborto. Sin embargo, cualquier enfermedad, infecciosa (no directamente abortiva) que presenta cuadros febriles puede causar aborto, que en muchos casos se debe a la liberación endógena de prostaglandina F2 alfa en respuesta a la presencia de endotoxinas (Daels *et al.*, 1987; 1989).

## 2.5 UTILIZACIÓN DE PROGESTÁGENOS EXÓGENOS

La progesterona es la hormona esencial para el mantenimiento de la gestación a través de sus efectos en el endometrio y el miometrio. En yeguas es secretada por los cuerpos lúteos y la placenta (Daels, 2004).

En yeguas que están ciclando se utilizan progestágenos sintéticos para sincronizar los estros o bien para suprimir la conducta de celo o estro. La progesterona ejerce una poderosa retroalimentación negativa sobre la liberación de LH (García et al., 1979; Allen et al., 1980), ya que las concentraciones de LH no comienzan a elevarse hasta después de la regresión del cuerpo lúteo (García y Ginther, 1978, Evans, 1982). Al aplicarse progestágenos exógenos Daels (2004) sugiere que se inhibe la liberación de LH hipofisaria, y por lo tanto puede que se reduzca la producción de progesterona endógena (Daels, 2004; Hogdson *et al.*, 2005). Al comienzo de la fase lútea la secreción de LH disminuye debido a una retroalimentación negativa ejercida por la producción de progesterona, por lo que es razonable proponer que un progestágeno exógeno podría retrasar el intervalo entre la selección de un folículo dominante y la ovulación, así como la disminución en la producción de progesterona endógena (Lee, 2003).

Existe polémica sobre el uso de progestágenos exógenos para la prevención de mortalidad embrionaria ya que su uso estaría recomendado solo en caso de detectarse niveles bajos de progesterona (Daels, 2004), como ocurriría en insuficiencia lútea primaria, luteólisis por inflamación uterina (endometritis) o endotoxemia sistémica y falla del embrión para bloquear la luteólisis. Sin embargo, la capacidad para detectar una inminente pérdida de gestación por alguno de estos mecanismos potenciales es limitada, lo que complica la aplicación racional y controlada de progestágenos exógenos (Daels, 2004).

La progesterona exógena o progestágenos sintéticos son administrados con frecuencia a yeguas gestantes con una historia clínica de pérdida de gestación (Neely, 1988), con la creencia de que dicha terapia es necesaria para complementar una producción inadecuada de progesterona endógena por el cuerpo lúteo o la placenta (Allen, 1984). En algunos estudios se han asociado las concentraciones bajas de progesterona con la

pérdida embrionaria temprana (Douglas *et al.*, 1985; Ginther, 1985b; Bergfelt *et al.*, 1992), pero no hay pruebas concluyentes para apoyar la conclusión de que la deficiencia lútea primaria es una causa importante de muerte embrionaria temprana (Allen, 1984; Ginther, 1992). De hecho, Irvine *et al.* (1990) demostraron en forma convincente que en muchos casos las yeguas tienen concentraciones de progesterona mucho más bajas de lo normal sin perder la gestación. Esta situación también se ha observado en yeguas gestantes con embrión mola (Boeta y Zarco, 2005; Boeta, 2008).

Algunos clínicos acostumbran administrar progesterona exógena cuando encuentran un embrión demasiado pequeño para su edad gestacional, con la esperanza de corregir temporalmente una deficiencia de progesterona mientras se forman cuerpos lúteos suplementarios (Squires, 1993b). También está indicada la administración exógena de progestágenos cuando hay evidencia clínica o la sospecha de endotoxemia sistémica debida a una enfermedad infecciosa, ya que las endotoxinas son potentes inductores de la liberación de prostaglandina F<sub>2α</sub>, lo que puede resultar en luteólisis y pérdida de la gestación (Daels *et al.*, 1987; 1989).

Los productos que han sido probados en equinos para el mantenimiento de la gestación y que actualmente están en el mercado, son:

- Progesterona inyectable con un vehículo oleoso como el aceite de sésamo.
- Altrenogest (sintético)

El progestágeno más utilizado en México para la sincronización de estros o la supresión del estro en yeguas es el altrenogest (Regumate), el cual se administra por vía oral, ya sea como medicación individual o mezclado en el grano. La dosis que se ha utilizado con éxito es de 0.044 mg/kg por día (Zarco y Boeta, 2000).

En la actualidad no existe una fórmula específica etiquetada para su uso en yeguas preñadas, por lo que el uso de la progestágenos exógenos para el mantenimiento de la gestación se realiza bajo el criterio del médico veterinario. Generalmente se administra altrenogest a una dosis diaria de 0.044mg/kg (Altrenogest, Regumate-Intervet), que es la misma utilizada para la sincronización de estros. También se ha utilizado la administración

intramuscular diaria de progesterona oleosa en dosis de 0.2-0.3 mg/kg/día. Aunque ambos tratamientos han sido eficaces para mantener la gestación en yeguas experimentales a las que se les ha eliminado la fuente endógena de progesterona (Hinrichs et al., 1986; Luliano y Squires, 1986), y su administración diaria es un inconveniente. Lamentablemente algunos otros progestágenos sintéticos con mayor vida media no han demostrado ser eficaces para mantener la gestación en la yegua (McKinnon *et al.*, 2000)

### **2.5.1 El altrenogest (Regumate)**

El altrenogest (aliltrenbolona,  $17\alpha$ -alil- $17\beta$ -hidroxi-estra-4,9,11-trien-3-ona) es un derivado de la C19-nortestosterona, esteroide que se caracteriza por tener grupos cetona en las posiciones 9 y 11, y un grupo de alilo en la posición C17. Actúa como progestágeno, por lo que imita los efectos de la progesterona y por lo tanto prepara y mantiene el aparato reproductor femenino para la implantación y la gestación, uniéndose a los receptores para progesterona (Machnik *et al.*, 2007).

Dependiendo de la vía de administración, oral o parenteral, los progestágenos, incluyendo al altrenogest, pueden presentar diferentes efectos de acuerdo a su metabolismo. Después de su administración oral el altrenogest se absorbe rápidamente y alcanza una concentración máxima en suero dentro de 2-5 hrs, teniendo una vida media más larga que la progesterona endógena, así como niveles plasmáticos estables en el uso a largo plazo. Es metabolizado en el hígado y secretado a través de la orina (Machnik *et al.*, 2007).

Los efectos biológicos de los esteroides a nivel celular son mediados por receptores intracelulares. La capacidad de los progestágenos sintéticos para unirse al receptor de progesterona varía entre los diferentes compuestos, lo que afecta sus efectos biológicos. Sin embargo, se han realizado pocos estudios comparando los diferentes progestágenos; y muy pocos han sido evaluados a largo plazo y aún menos se han evaluado en equinos (Schindler *et al.*, 2003).

El altrenogest se ha utilizado en equinos para acortar la época de transición, para suprimir el estro, para la sincronización de estros y para el mantenimiento de la gestación en yeguas con problemas de la glándula lútea o para transferencia de embriones. El tratamiento con altrenogest provoca una inhibición en la liberación de LH hipofisiaria por lo que los folículos no pueden crecer, madurar y ovular. Durante el tratamiento con este progestágeno en yeguas que se encuentran ciclando disminuye significativamente el tamaño y número de folículos mayores o iguales a 40 mm, por lo que el comportamiento estral se ve mermado por la poca producción de estrógenos por parte de los folículos. La receptividad sexual se suprime de 2 a 3 días después de haber iniciado el tratamiento (Smith, 2007).

En yeguas gestantes el altrenogest se ha utilizado cuando se sospecha de hipofunción lútea o cuando se espera una luteólisis prematura debida a endometritis (Daels, 2004). La terapia con altrenogest debe ser monitoreada mediante ultrasonografía y la determinación de las concentraciones de progesterona endógena, ya que el progestágeno puede reducir la producción lútea de progesterona endógena debido a sus efectos de retroalimentación negativa sobre la secreción de LH hipofisiaria. Por esta razón, si se inicia terapia con altrenogest, la misma debe mantenerse hasta que la eCG se comience a secretar y estimule una producción adecuada de progesterona por parte de los cuerpos lúteos secundarios y/o accesorios, o bien hasta la etapa de la gestación en la que la unidad feto-placentaria se encarga de la producción de progestágenos (Daels, 2004).

Las yeguas gestantes con embrión mula producen muy poca eCG y solamente durante un periodo muy corto de la gestación, por lo que después de los 60 días de la gestación sus concentraciones son indetectables (Boeta y Zarco, 2005; Boeta, 2008). En esta situación, la eCG no puede encargarse de mantener la función lútea, la que probablemente es mantenida exclusivamente por LH hipofisiaria. De ser así, la administración de altrenogest podría suprimir la función lútea hasta niveles incompatibles con el mantenimiento de la gestación una vez suprimida la administración del progestágeno. Por esta razón, la gestación de yeguas servidas con burro puede ser un buen modelo para determinar si la LH hipofisiaria contribuye al mantenimiento de la función lútea en etapas de la gestación en las que normalmente esta función es realizada por la eCG. En yeguas carentes de esta gonadotropina (como las gestantes con embrión mula), la presencia continua de un progestágeno sintético (altrenogest)

podría resultar en una reducción o incluso pérdida de la función de los cuerpos lúteos de la gestación al no contar estos con el apoyo de la LH ni de la eCG. De ser así, el retiro repentino del progestágeno en este tipo de yeguas resultaría en deficiencia de progesterona y aborto.

Por lo tanto, los objetivos del presente trabajo fueron:

- Comparar las concentraciones de progesterona y eCG durante los primeros tres meses de la gestación en yeguas servidas con burro tratadas o sin tratar con altrenogest desde el día 35 hasta el día 70 de la gestación.
- Comparar el número de ovulaciones suplementarias presentadas durante los primeros 3 meses de la gestación en yeguas servidas con burro tratadas o sin tratar con altrenogest desde el día 35 hasta el día 70 de la gestación.
- Comparar la incidencia de abortos en ambos grupos.
- Determinar en cada grupo si la ocurrencia de abortos fue precedida por una deficiencia en la producción de progesterona.

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el antiguo Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Agrícola y Ganadería (CEIEPAG) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en Chalco, Estado de México, a 19° 09" latitud norte.

#### ANIMALES

Se utilizaron 30 yeguas criollas gestantes de entre 5 y 10 años de edad, con peso promedio de 270 kg, las cuales habían sido inseminadas con semen de burro. Al momento del diagnóstico de gestación (día 15 post-ovulación) se dividieron al azar en dos grupos. El grupo experimental, conformado por 15 yeguas que fueron tratadas con altrenogest (0.088 mg/kg/día) durante la gestación, y el grupo testigo con 15 yeguas, a las cuales no se les aplicó ningún tratamiento.

Las yeguas fueron alojadas en corrales dotados de espacio, bebederos y comederos suficientes, con agua *ad libitum* y una alimentación a base de heno de avena, heno de alfalfa y concentrado comercial. Antes de iniciar el estudio, a cada yegua se le realizó un examen físico general para descartar cualquier enfermedad, así como un examen ginecológico completo para verificar la ausencia de condiciones patológicas clínicamente detectables. Posteriormente las yeguas fueron desparasitadas, pesadas e identificadas.

Se detectaron calores todos los días utilizando un garañón. Una vez las yeguas en estro se realizó una exploración ginecológica por ultrasonografía para programar la inseminación artificial en el momento más cercano a la ovulación (Boeta y Zarco, 2005). Para la inseminación artificial se colectó semen de un asno Kentucky por medio de una vagina artificial modelo Missouri. El semen se utilizó en fresco para realizar la inseminación transcervical. Se realizó el diagnóstico de gestación a los 15 días post-ovulación con un aparato de ultrasonido en tiempo real (Aloka 210, Echo Camera SSD-506; Aloka Co., LTD, Tokio, Japan) equipado con un transductor de 5 MHz. A partir de los 30 días de gestación se realizaron ultrasonidos dos veces por semana para determinar pérdidas de gestación, o hasta los 120 días de la gestación. En cada evaluación ultrasonográfica se determinaba la viabilidad fetal por medio de la presencia del latido cardiaco, movimiento fetal y las pulsaciones del cordón umbilical del producto.

## TRATAMIENTO

A partir del día 35 de la gestación, a las yeguas del grupo experimental se les administró altrenogest por vía oral a una dosis diaria de 0.088 mg/kg hasta el día 70 de gestación, mientras que al grupo testigo que no recibió altrenogest, se le administró un placebo (agua). En el mismo periodo se obtuvieron muestras sanguíneas dos veces por semana mediante punción de la vena yugular, utilizando tubos vacutainer con gel activador de suero, para la determinación de las concentraciones de progesterona y gonadotropina coriónica equina. Las muestras de sangre se centrifugaron a 3000 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 minutos dentro de la primera hora posterior a su obtención para separar el suero, el cual se almacenó a -20°C hasta que se determinaron las concentraciones de progesterona y eCG en el laboratorio de endocrinología del Departamento de Reproducción en la FMVZ de la UNAM.

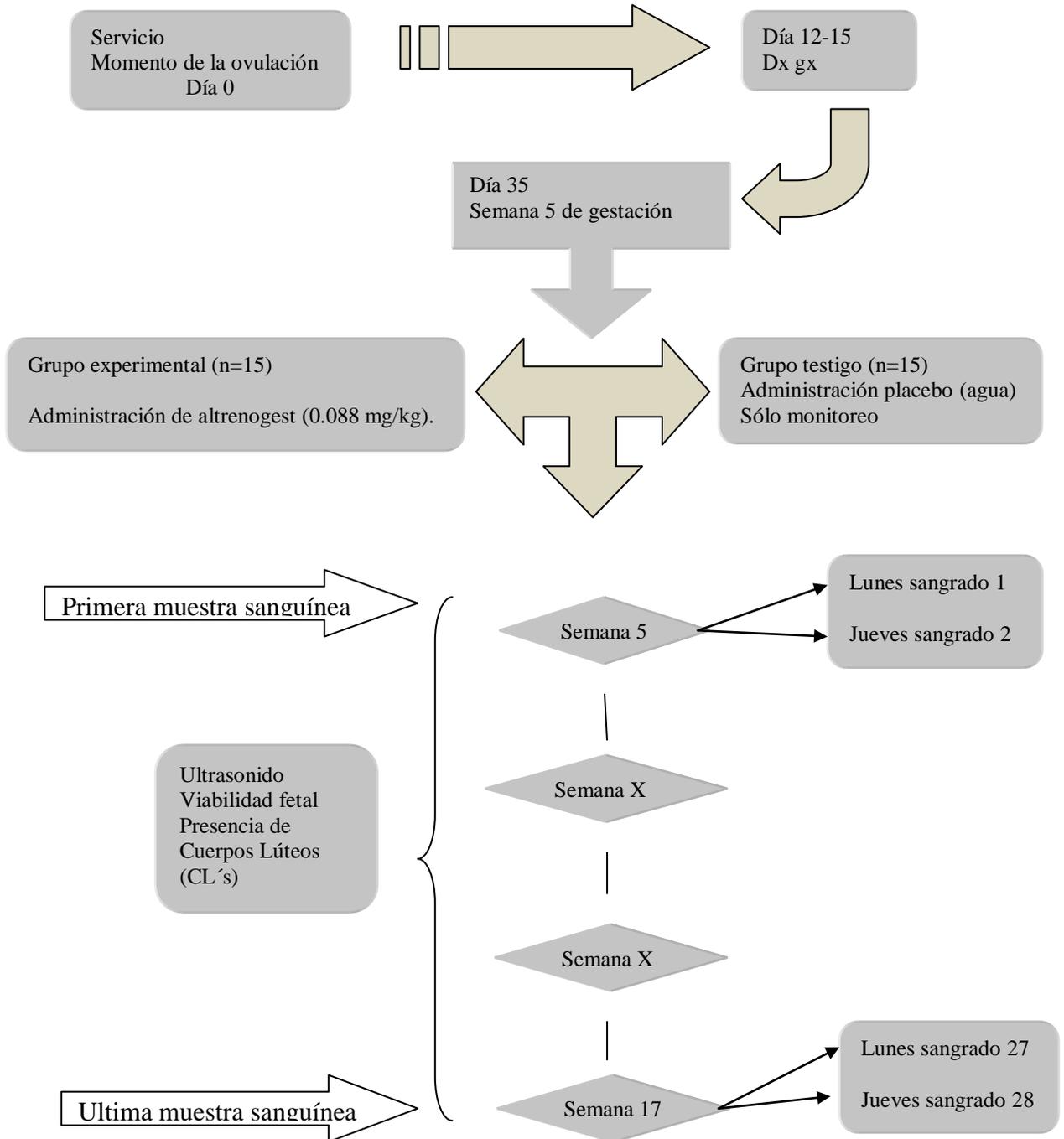
Para la determinación de las concentraciones de progesterona en suero se realizó por radioinmunoanálisis de fase sólida, empleando un kit Coat-A-Count® Progesterona (Diagnostic Product Corporation, Los Angeles, C.A., U.S.A) (Pulido *et al.*, 1991) con un límite de sensibilidad del ensayo de 0.1 ng/ml y coeficiente de variación intraensayo del 4% e interensayo del 7%.

La determinación de las concentraciones de eCG en suero se realizó enzimoimmunoensayo (ELISA) en placas de micro titulación, basado en el principio de sándwich (DGR, Instruments Marburg, Alemania) (Voller *et al.*, 1978). El límite de detección del ensayo fue de 6.28 mUI/ml y un coeficiente de variación intraensayo de 5.6% para valores bajos y 9.9% para valores altos, y un coeficiente de variación interensayo de 6.03%.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calcularon las medias por mínimos cuadrados de las concentraciones semanales de progesterona y eCG de las gestaciones en las que no hubo pérdida del producto (gestaciones normales), comparándose entre grupos con las concentraciones semanales de cada hormona por medio de un análisis de varianza para mediciones repetidas, tomando al grupo y la semana como efectos principales y el efecto de la yegua anidado dentro del grupo (Boeta y Zarco, 2005). La prueba para comparar la incidencia de pérdidas de gestación fue la prueba exacta de Fisher, donde las diferencias no fueron significativas.

## Diagrama del experimento



**Fig. 1** Diagrama que muestra las actividades llevadas a cabo durante el trabajo de campo en ambos grupos de animales. IA=Inseminación Artificial; Dx gx= Diagnóstico de gestación; n= número de animales; Semana X= enumera las semanas consecutivas desde la semana 5 hasta la semana 17.

#### 4. RESULTADOS:

##### 4.1 Incidencia de pérdidas de gestación

La incidencia total de pérdidas de gestación ocurridas en yeguas tratadas con altrenogest fue del 26.6%. Durante la administración de la hormona ocurrieron tres abortos y al retiro del mismo se presentó otra pérdidas de gestación (Cuadro 1). La incidencia total de pérdidas de gestación en yeguas que no recibieron el tratamiento fue del 13.3%, presentándose dos abortos después del día 70 de la gestación. La diferencia en la incidencia de pérdida de gestación entre grupos no es significativa ( $p>0.05$ ).

**Cuadro 1. Incidencia de pérdidas de gestación en yeguas tratadas con altrenogest**

GRUPO	Pérdidas de gestación durante el tratamiento (35-70 días)	Abortos después del fin del tratamiento (> 70 días)	Gestaciones normales
Experimental (n=15)	Plata (día 45) Diamante (día 66) Baya (día 71)	Perla (día 94)	11
Testigo (n=15)	0	Negra (día 70) Ronaldiña (día 97)	13

##### 4.2 Ovulaciones suplementarias

En el cuadro 2 se encuentran los resultados respecto a la formación de cuerpos lúteos suplementarios en el grupo testigo y en el grupo experimental. En el primer grupo el 86.6 % de las yeguas presentaron al menos un CL suplementario mientras que solo el 40 % de las yeguas tratadas con altrenogest presentaron un CL suplementario. La diferencia entre grupos fue más importante si se considera solamente el periodo entre los 35 y los 70 días de gestación, que corresponde al periodo de tratamiento con altrenogest, ya que el 73.3 % de las yeguas testigo y solo el 20 % de las tratadas formaron cuerpos lúteos suplementarios en ese periodo, siendo esta diferencia significativa ( $p<0.05$ ).

**Cuadro 2. Número de yeguas tratadas o sin tratar con altrenogest que formaron cuerpos lúteos suplementarios durante los primeros 120 días de gestación.**

GRUPO	Yegua	Día (s) en que formó CLs suplementarios		Total de CLs suplementarios	Yeguas sin CLs suplementarios
		Durante del Tratamiento	Después del Tratamiento		
Experimental	Alazana	50	-	1	<b>No Abortaron</b> Angustias Gloria Gris Huesos Lince <b>Abortaron</b> Baya (día 71) Diamante (día 66) Perla (día 94) Plata (día 45)
	Colorada	50	-	1	
	Vaca	69	-	1	
	Lupe	-	84	1	
	Mía	-	88	1	
	Magnolia	-	118	1	
Testigo	Asturiana	52	-	1	<b>No Abortaron</b> Rose <b>Abortaron</b> Negra (día 76)
	Colorina	48,57	-	2	
	Giaconda	43	105	2	
	Gitana	35	-	1	
	Lola	47,63	-	2	
	Manchitas	42	93	2	
	Marimbacha	42	-	1	
	Paolina	-	92,97	2	
	Peque	40	79,82	3	
	Rana	52	-	1	
	Rosilla	-	86	1	
	Rubia	41	-	1	
	<b>Abortó</b> (día 97) Ronaldiña	42	-	1	

### 4.3 Concentraciones de progesterona y eCG en yeguas tratadas con altrenogest

En la figura 2 se observa que las concentraciones promedio de progesterona entre la semana 5 y la semana 17 de la gestación de yeguas gestantes con semen de burro y tratadas con altrenogest siempre fueron similares a las del grupo testigo y no se encontraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ). En ambos grupos la máxima concentración de progesterona se alcanzó en la semana 7 de la gestación.

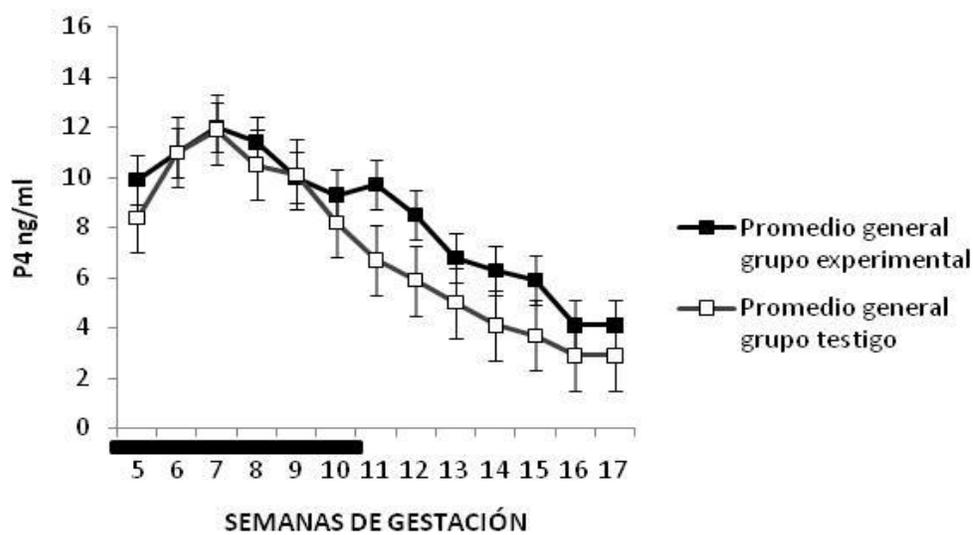
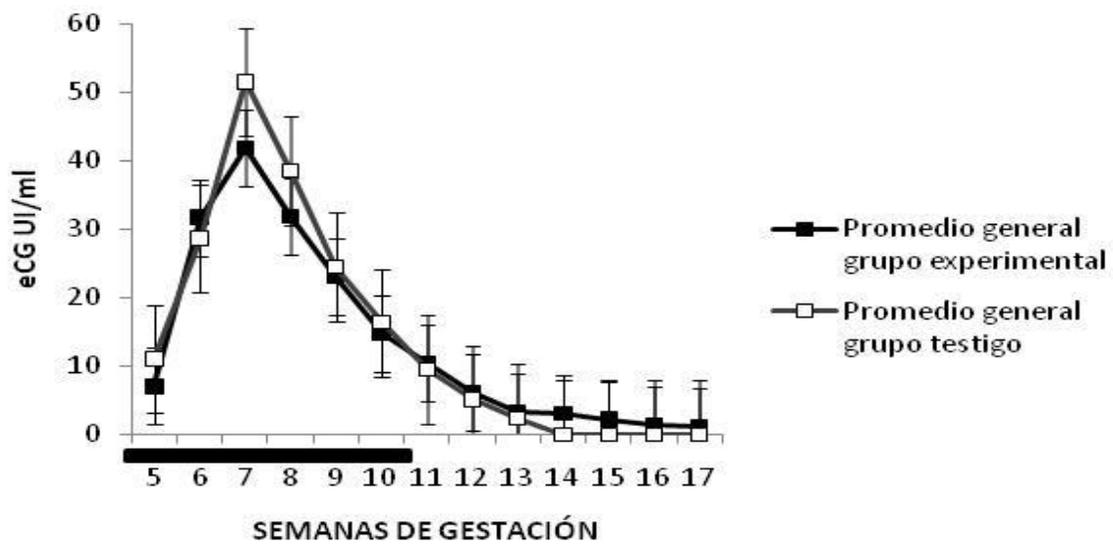


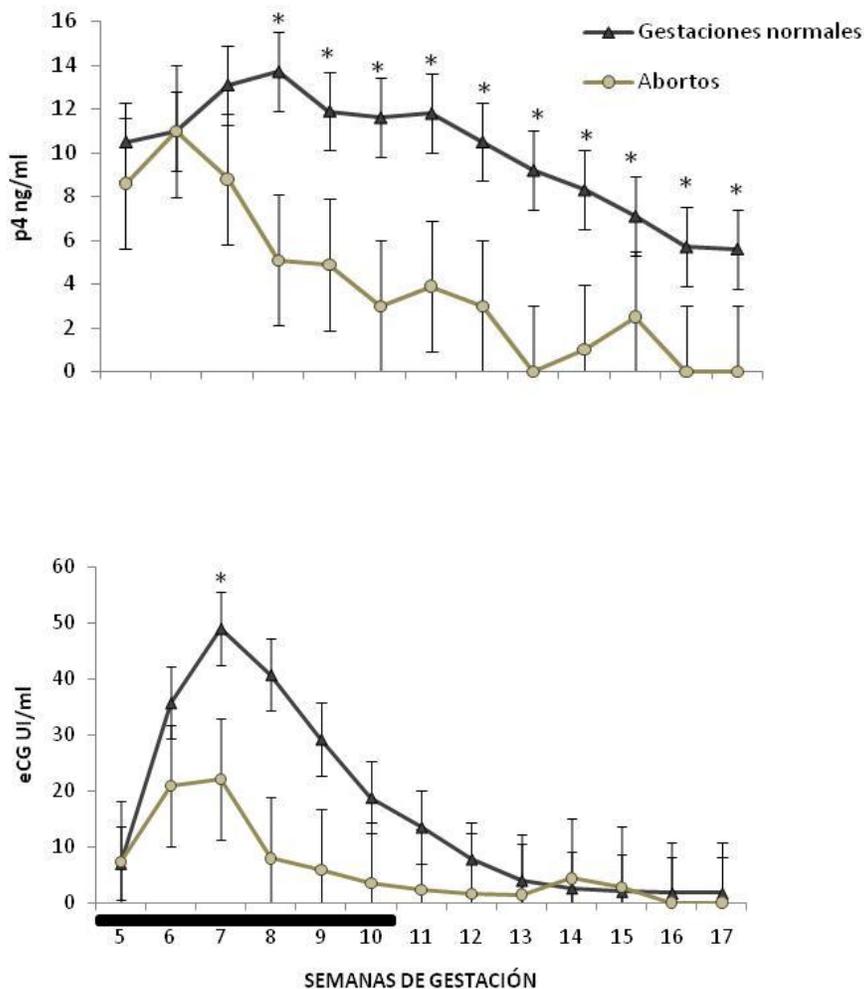
Fig. 2 Concentraciones promedio de progesterona en yeguas gestantes con embrión mula del grupo experimental y del grupo testigo. Las concentraciones de progesterona no fueron significativamente diferentes entre los grupos ( $p>0.05$ ). Las barras representan el error estándar. La franja oscura indica el periodo de tratamiento en las yeguas del grupo experimental.

En la figura 3 se muestran las concentraciones medias de eCG en yeguas con gestación mular del grupo experimental y del grupo testigo. Las diferencias entre grupos no son significativas ( $p>0.05$ ). Las concentraciones promedio de eCG alcanzaron su máximo nivel en ambos grupos durante la semana 7 de la gestación.

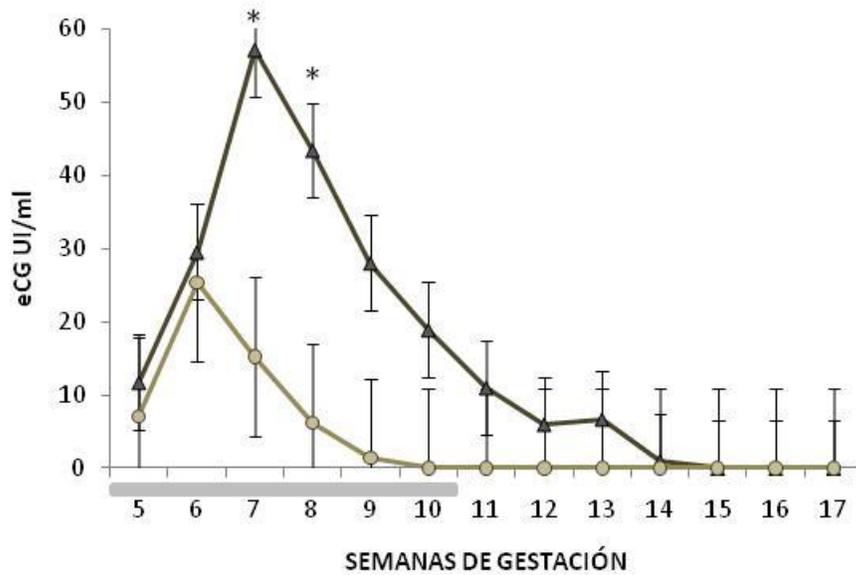
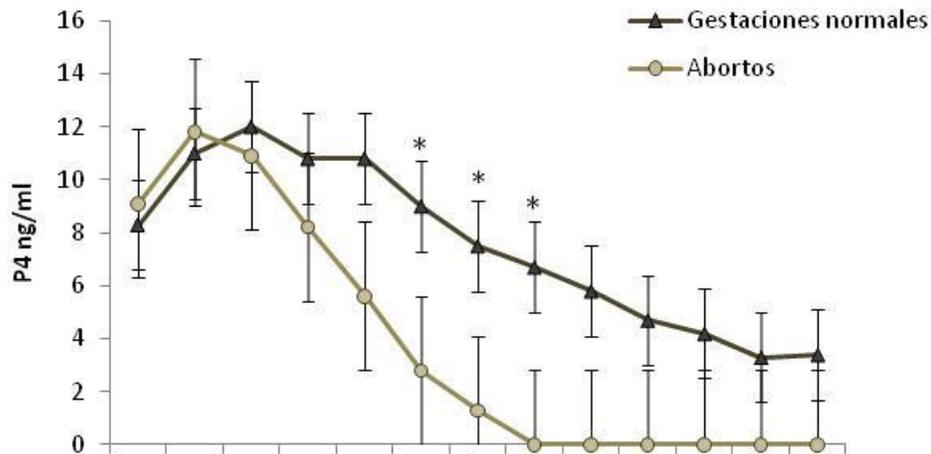


**Fig. 3** Concentraciones promedio de eCG en gestaciones mulares en el grupo experimental y testigo. Las diferencias no fueron significativamente diferentes ( $p>0.05$ ). Las barras representan el error estándar. La franja oscura indica el periodo de tratamiento para las yeguas del grupo experimental.

En la figura 4. se muestran las concentraciones promedio de progesterona y eCG en gestaciones normales y en gestaciones que se perdieron entre la semana 5 y 17 en el grupo experimental, y en la figura 5 se muestra la misma comparación para las yeguas del grupo testigo. En el grupo experimental las concentraciones de progesterona fueron estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ) entre tipos de gestación desde la semana 8 a la 17 y las de eCG solo fueron diferentes en la semana 8 (figura 4). En el caso de las yeguas testigo, las concentraciones de progesterona fueron mayores ( $p < 0.05$ ) en las gestaciones normales que en las terminadas en aborto durante las semanas 10, 11 y 12, y las de eCG durante las semanas 7 y 8.



**Fig. 4** Concentraciones promedio de P4 y eCG en gestaciones normales y gestaciones que terminaron en aborto en el grupo experimental. Los asteriscos indican las semanas en las cuales hay diferencia estadística ( $p < 0.05$ ). Las barras representan el error estándar. La franja oscura indica el periodo de tratamiento para las yeguas del grupo experimental.



**Fig. 5** Concentraciones promedio de P4 y eCG en gestaciones normales y gestaciones terminadas en aborto en yeguas del grupo testigo. Los asteriscos indican las semanas en las cuales hay diferencia estadística ( $p < 0.05$ ). Las barras representan el error estándar. La franja gris indica el periodo de tratamiento para las yeguas del grupo experimental.

#### 4.4 Descripción de los abortos ocurridos en yeguas con gestaciones mulares tratadas con altrenogest.

A continuación se describirá el caso de cada yegua que sufrió pérdida de gestación tanto en el grupo experimental como en el testigo, presentando las concentraciones hormonales de progesterona (P4) y gonadotropina coriónica equina (eCG), comparándolas contra los valores promedio obtenidos en las gestaciones normales de su mismo grupo. Con base a lo anterior se estableció la posible causa de muerte del producto.

En la yegua Plata, desde la quinta semana que inicio el tratamiento con altrenogest produjo poca progesterona, reduciéndose a niveles basales en la octava semana. La muerte fetal se produjo en la sexta semana, cuando las concentraciones de progesterona eran de alrededor de 3 ng/ml. La secreción de eCG fue siempre muy reducida. Esta yegua no formó cuerpos lúteos suplementarios, sugiriendo que el aborto se debió a insuficiencia lútea secundaria por falta de apoyo por la eCG.

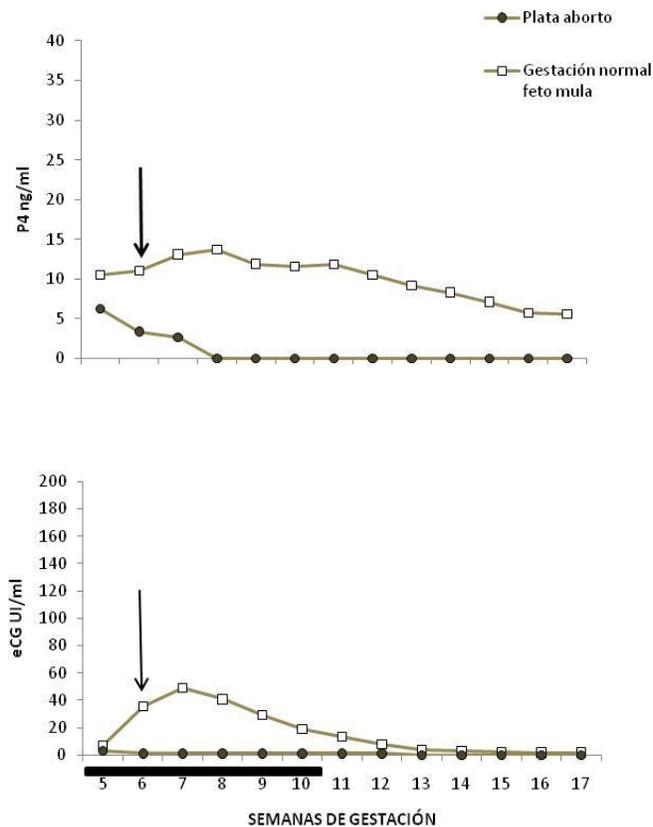
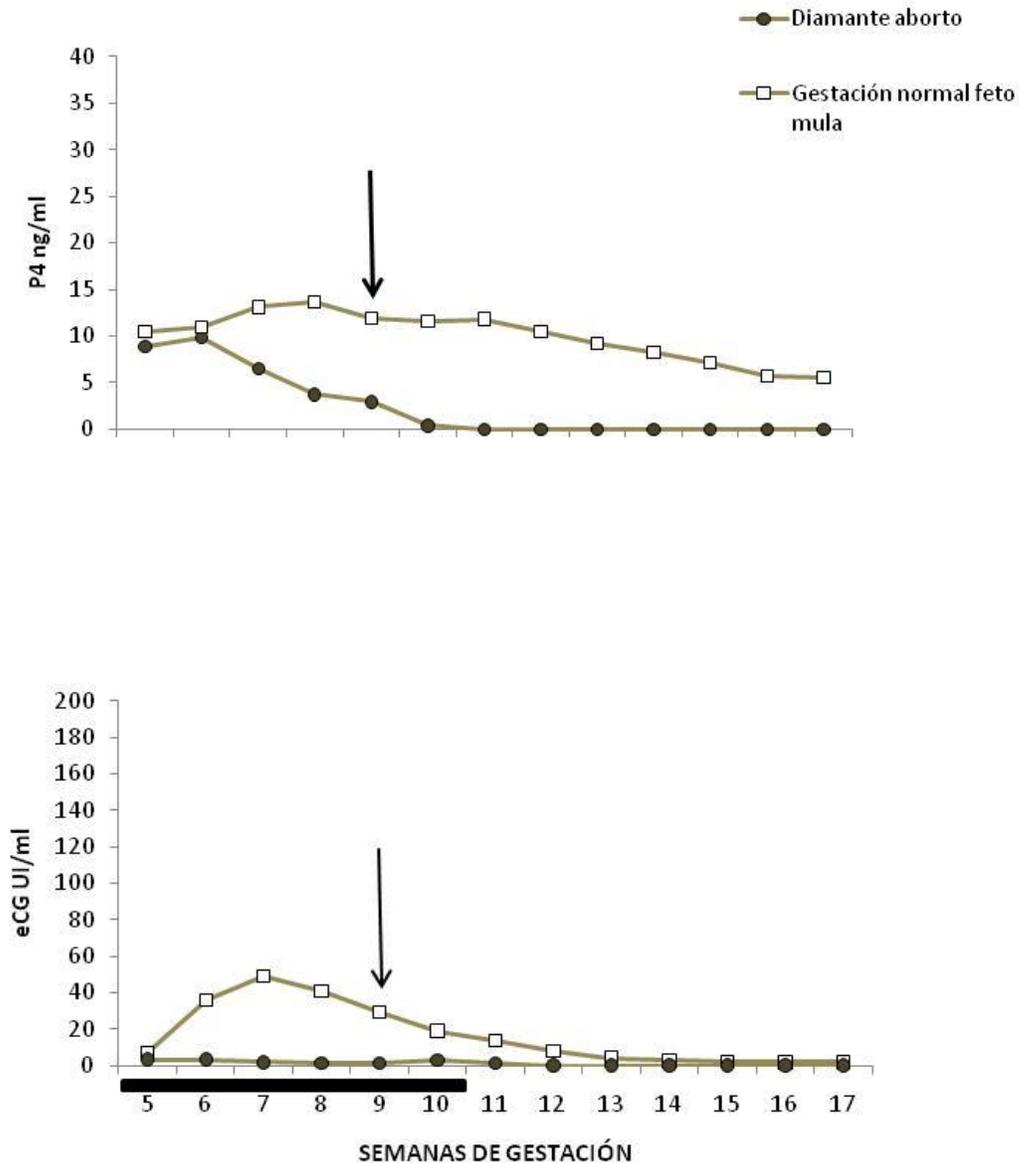


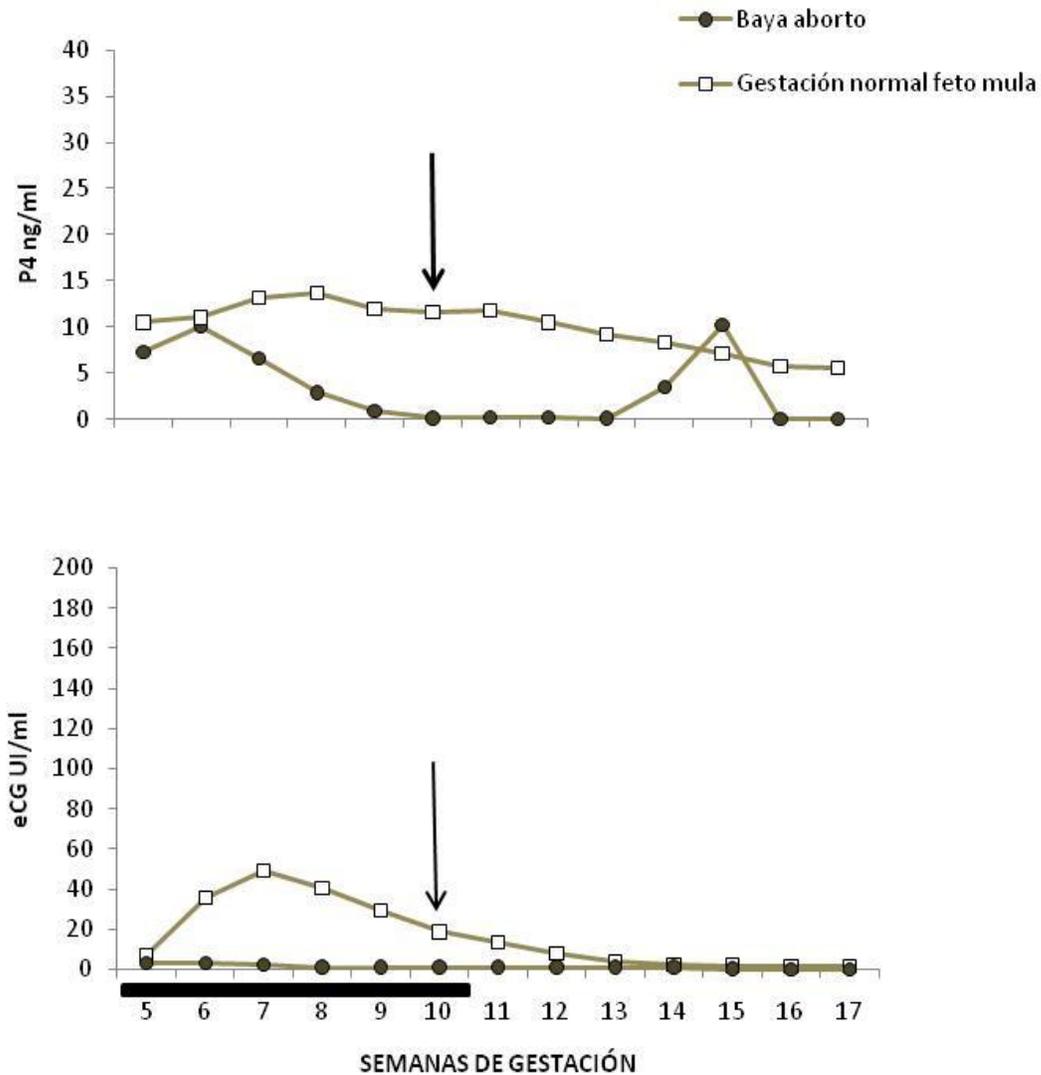
Fig. 6 Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que sufrió aborto por deficiencia lútea secundaria a la falta de apoyo de la eCG. Las flechas indican el momento de la pérdida de gestación y la franja oscura el periodo de tratamiento con altrenogest.

En la yegua Diamante a partir de la sexta semana comenzaron a disminuir los niveles de progesterona hasta llegar a niveles basales en la semana 10, detectándose la muerte fetal en la semana 9. Las concentraciones de eCG nunca se elevaron y permanecieron a niveles basales y no hubo formación de cuerpos lúteos suplementarios. En esta yegua también parece haber ocurrido el aborto por deficiencia lútea secundaria por deficiencia de eCG.



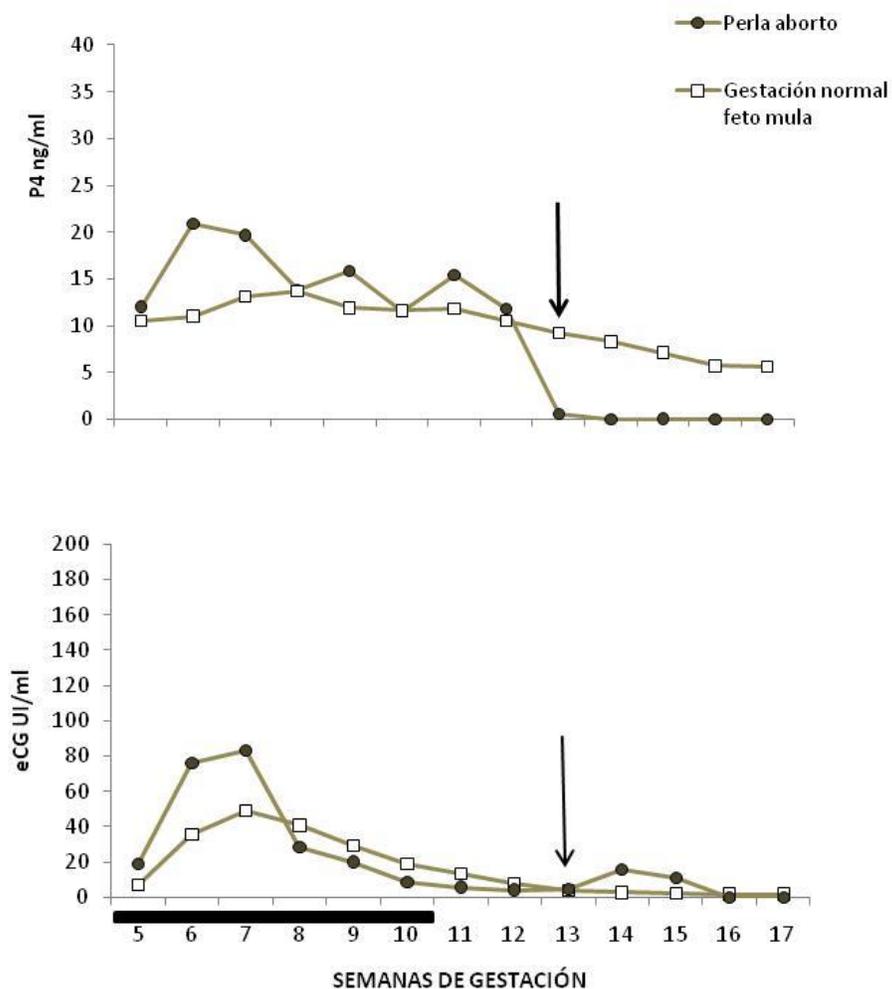
**Fig. 7** Concentraciones de P4 y eCG en yegua tratada con altrenogest que terminó en aborto por deficiencia lútea secundaria. Las flechas indican el momento de la pérdida de gestación y la franja oscura el periodo de tratamiento con altrenogest.

En la yegua Baya las concentraciones de progesterona disminuyeron paulatinamente a partir de la séptima semana para llegar a niveles basales (1 ng/ml) en la semana 10, cuando ocurrió el aborto. Las concentraciones de eCG en esta yegua nunca se elevaron y no hubo formación de cuerpos lúteos suplementarios, por lo que se sugiere que el aborto fue ocasionado por insuficiencia lútea secundaria por falta de apoyo gonadotrópico.



**Fig. 8** Concentraciones de P4 y eCG en una yegua tratada con altrenogest que abortó por deficiencia lútea secundaria a una falta de apoyo de eCG. Las flechas indican el momento de la pérdida de gestación y la franja oscura el periodo de tratamiento con altrenogest.

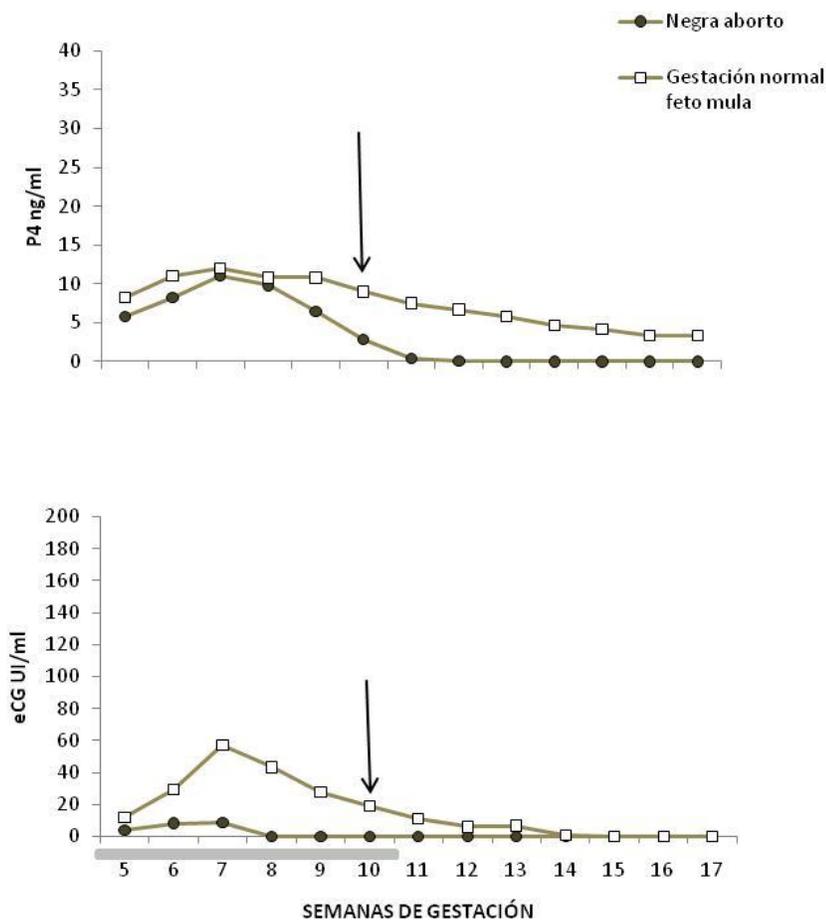
La yegua Perla presentó concentraciones mayores de progesterona y eCG que las yeguas con gestación normal. Sus concentraciones de progesterona alcanzaron los 20 ng/ml en la semana 6 y se mantuvieron por encima de los 10 ng/ml hasta la semana 11. Sin embargo tres semanas después del retiro del altrenogest ocurrió la muerte fetal tras registrarse una caída súbita en los niveles de progesterona, lo que sugiere una luteólisis activa. Las concentraciones de eCG durante las primeras semanas fueron más elevadas que las concentraciones promedio de las yeguas con gestación normal, indicando que las copas endometriales se desarrollaron adecuadamente, a pesar de lo cual no existió la formación de cuerpos lúteos suplementarios.



**Fig. Fig. 9** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que sufrió aborto por luteólisis activa. Las flechas indican el momento de la pérdida de gestación y la franja oscura el periodo de tratamiento con altrenogest.

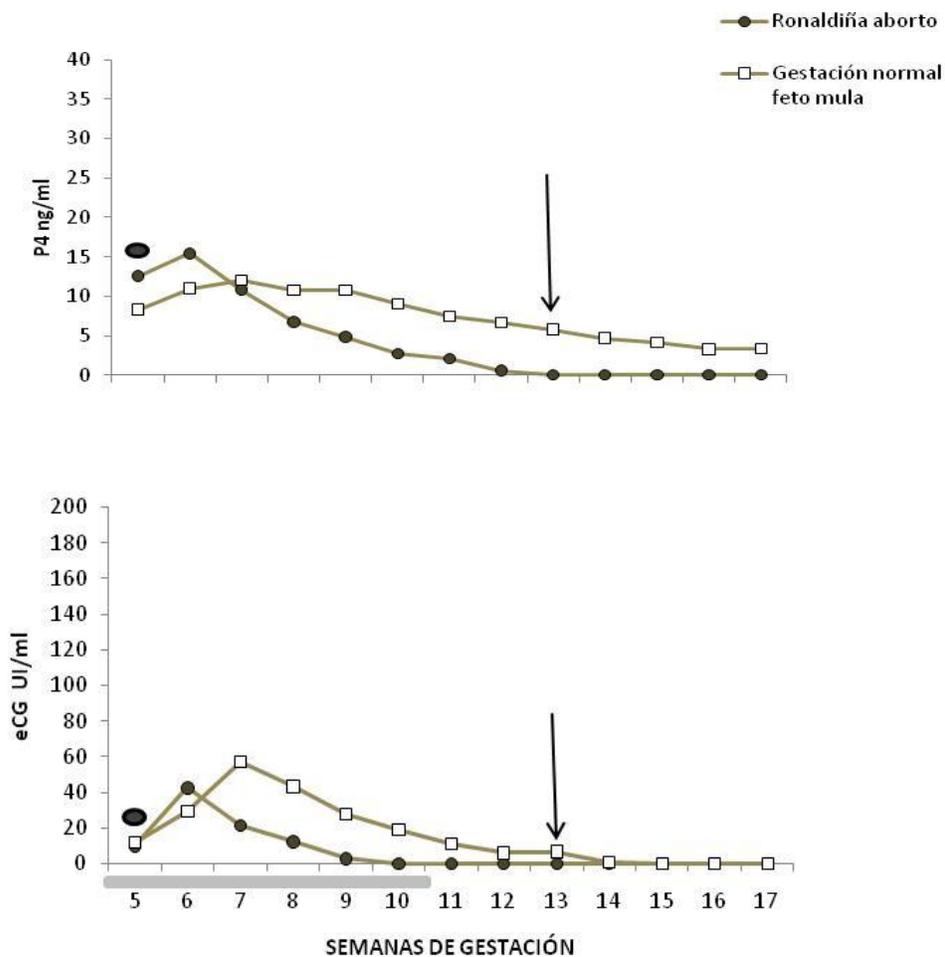
#### 4.5 Descripción de los abortos ocurridos en yeguas con gestaciones mulares que no recibieron tratamiento con progestágenos

La yegua Negra desde el inicio del trabajo tenía concentraciones de progesterona ligeramente menores a las presentadas en yeguas con gestaciones normales. En la semana 9 se inició un súbito descenso en las concentraciones de progesterona y en la décima semana se detectó la muerte fetal, cuando sus concentraciones de P4 eran de alrededor de 3 ng/ml. Las concentraciones de eCG de esta yegua fueron siempre más bajas de lo normal y no se formaron cuerpos lúteos suplementarios. Los datos sugieren que el aborto de esta yegua se debió a deficiencia lútea secundaria por falta de eCG.



**Fig. 10** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua del grupo testigo que sufrió aborto por deficiencia lútea secundandaria, por falta de apoyo en la secreción de eCG. Las flechas indican el momento de la pérdida de gestación y la franja gris el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental.

La yegua Ronaldiña en la semana cinco de gestación presentó una ovulación secundaria y concentraciones de progesterona más elevadas que el promedio general de las yeguas que no abortaron, teniendo un pico de 15 ng/ml en la sexta semana, el cual coincidió con el pico de eCG. Posteriormente la progesterona decreció hasta llegar a niveles basales en la semana 13, cuando se detectó la muerte fetal. La eCG había llegado a niveles basales desde la semana 10. Los datos sugieren que el aborto de esta yegua se debió a deficiencia lútea secundaria por falta de eCG.



**Fig. 11** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua del grupo testigo que sufrió aborto por deficiencia lútea secundaria a falta de apoyo en la secreción de eCG. Las flechas indican el momento de la pérdida de gestación, el círculo la formación de un cuerpo lúteo suplementario y la franja gris el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental.

#### 4.6 Concentraciones hormonales y formación de cuerpos lúteos secundarios en yeguas tratadas con altrenogest que no perdieron la gestación

##### 4.6.1 Yeguas tratadas con altrenogest con concentraciones bajas de progesterona asociadas a deficiencia parcial o total en la secreción de eCG

Las yeguas Gris, Lupe, Vaca y Magnolia (figuras 12, 13, 14 y 15 respectivamente) presentaron durante el tratamiento con altrenogest al menos un periodo con concentraciones de progesterona por debajo de las yeguas de su grupo que no abortaron, lo que en el caso de Gris y Lupe (figs 12 y 13) estuvo acompañado por concentraciones basales de eCG y en el caso de Vaca y Magnolia (figuras 14 y 15) se asoció con un retraso en la elevación de las concentraciones de eCG. La yegua Gris, fue la única de estas cuatro yeguas que tuvo una ausencia total de eCG y también la única de las tres que nunca formó cuerpos lúteos suplementarios.

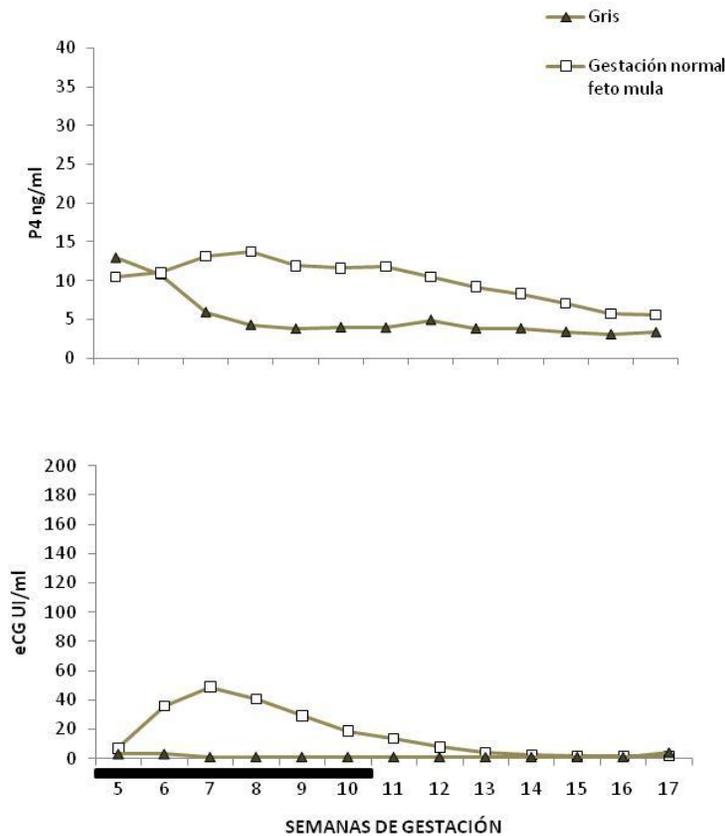
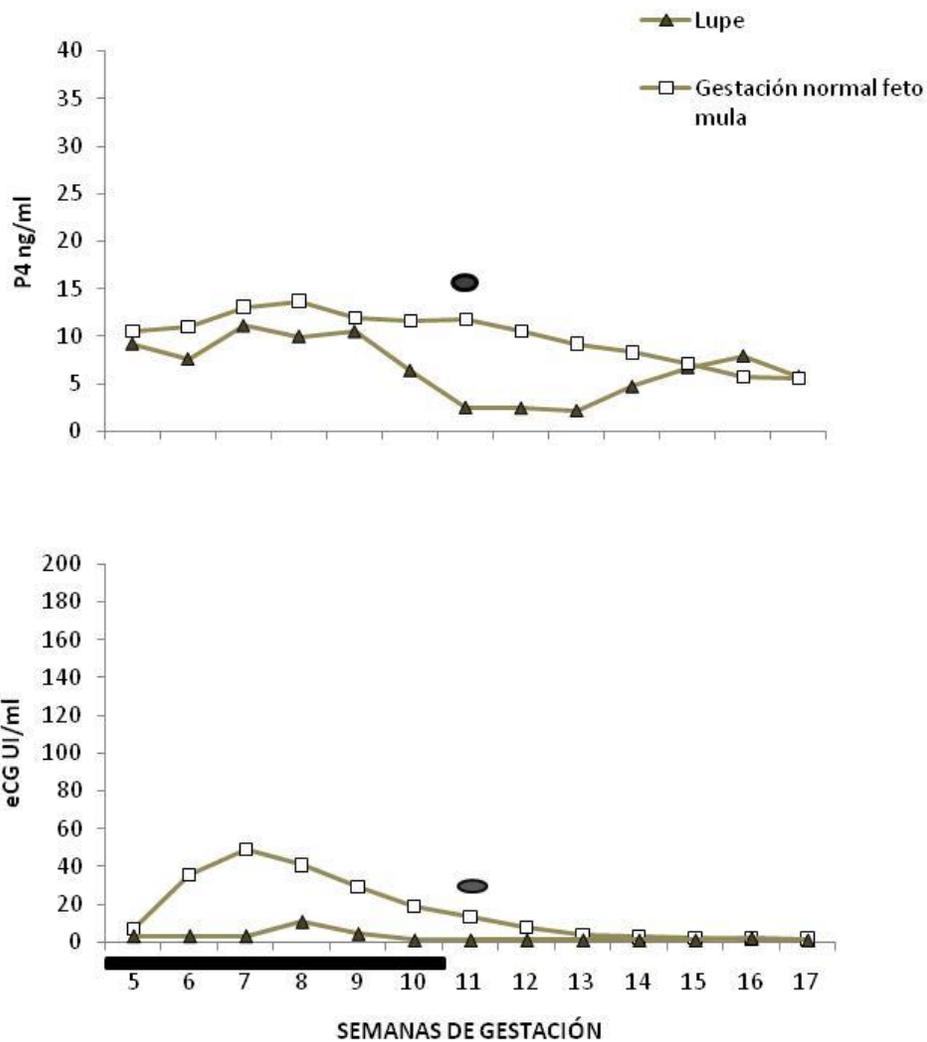
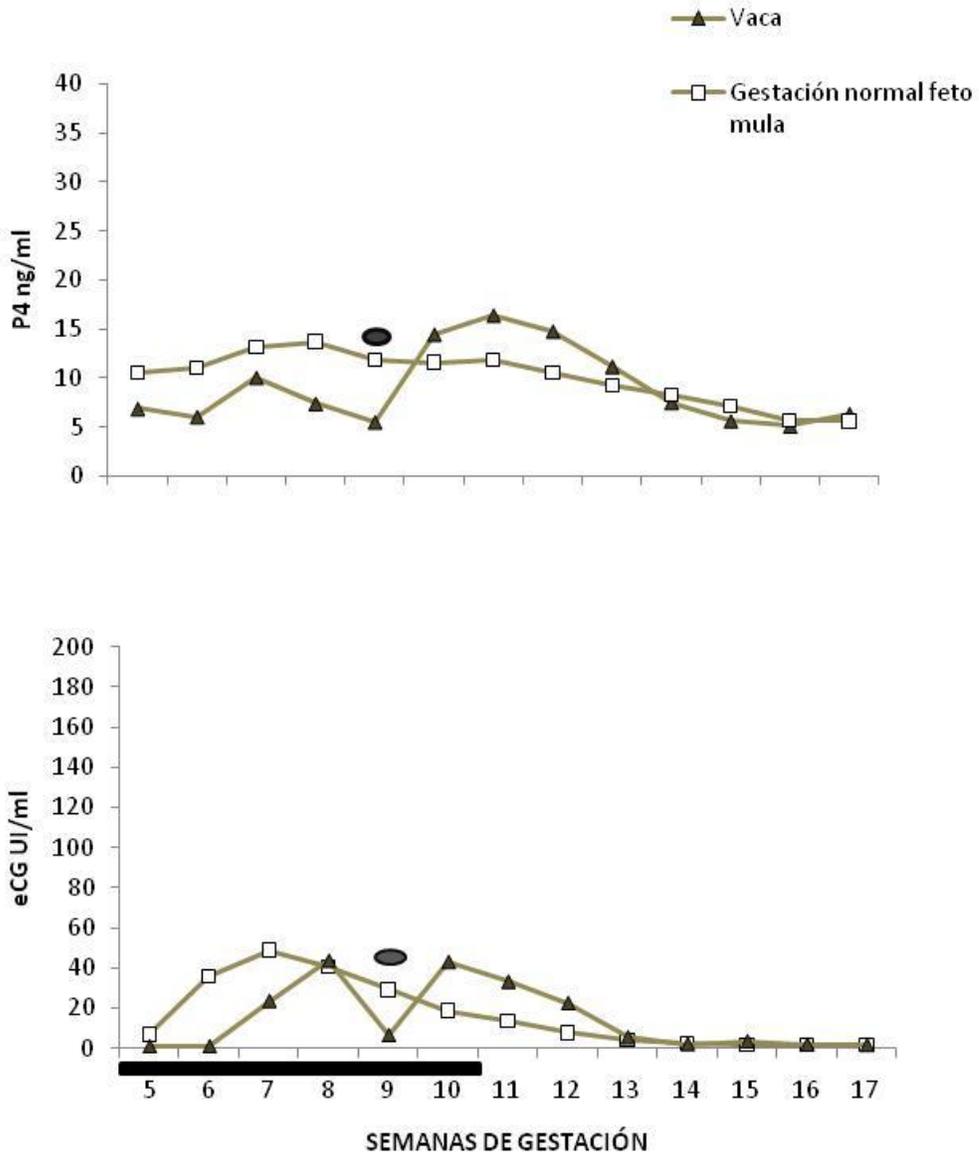


Fig. 12 Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo gestación normal a pesar de tener bajas concentraciones de progesterona y eCG. La franja negra debajo de la gráfica indica el periodo de tratamiento con altrenogest.



**Fig. 13** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal a pesar de tener una fuerte caída en sus concentraciones de progesterona a partir de la semana 8. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest.



**Fig. 14** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal a pesar de tener concentraciones bajas de progesterona durante las primeras semanas del tratamiento con altrenogest. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest y Vaca es el nombre de la yegua.

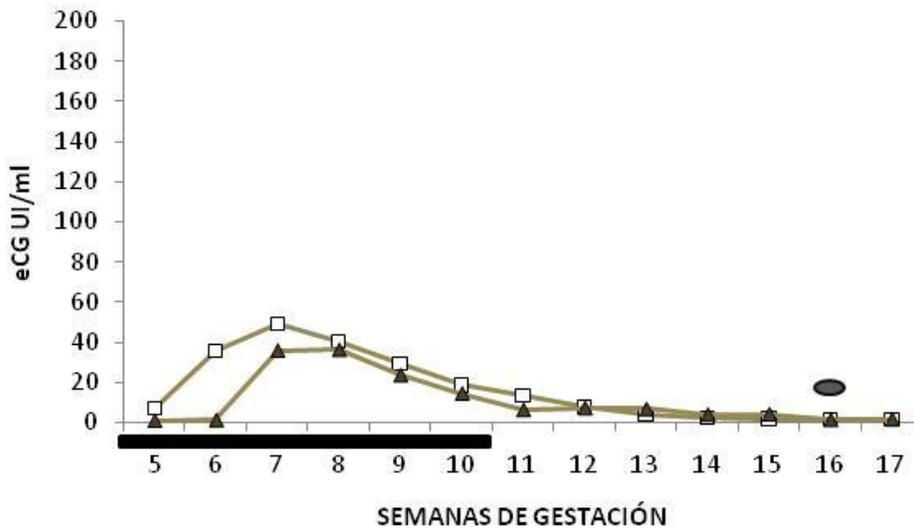
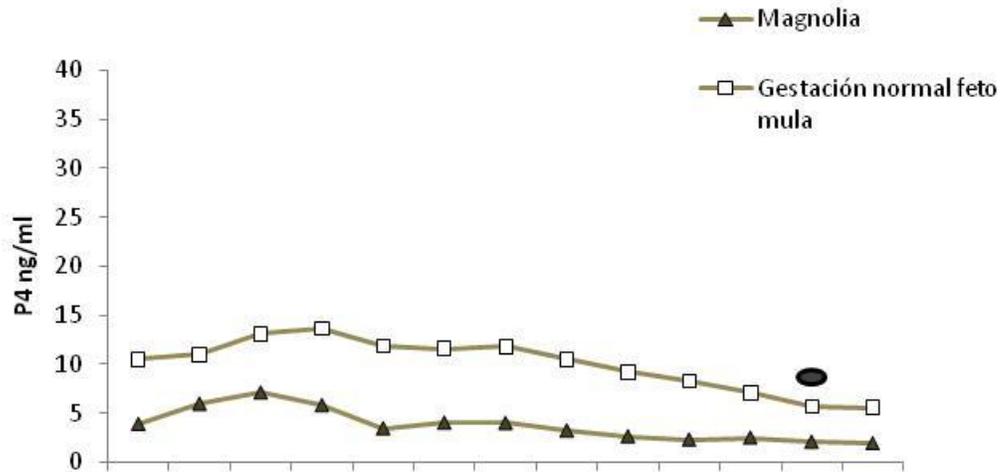
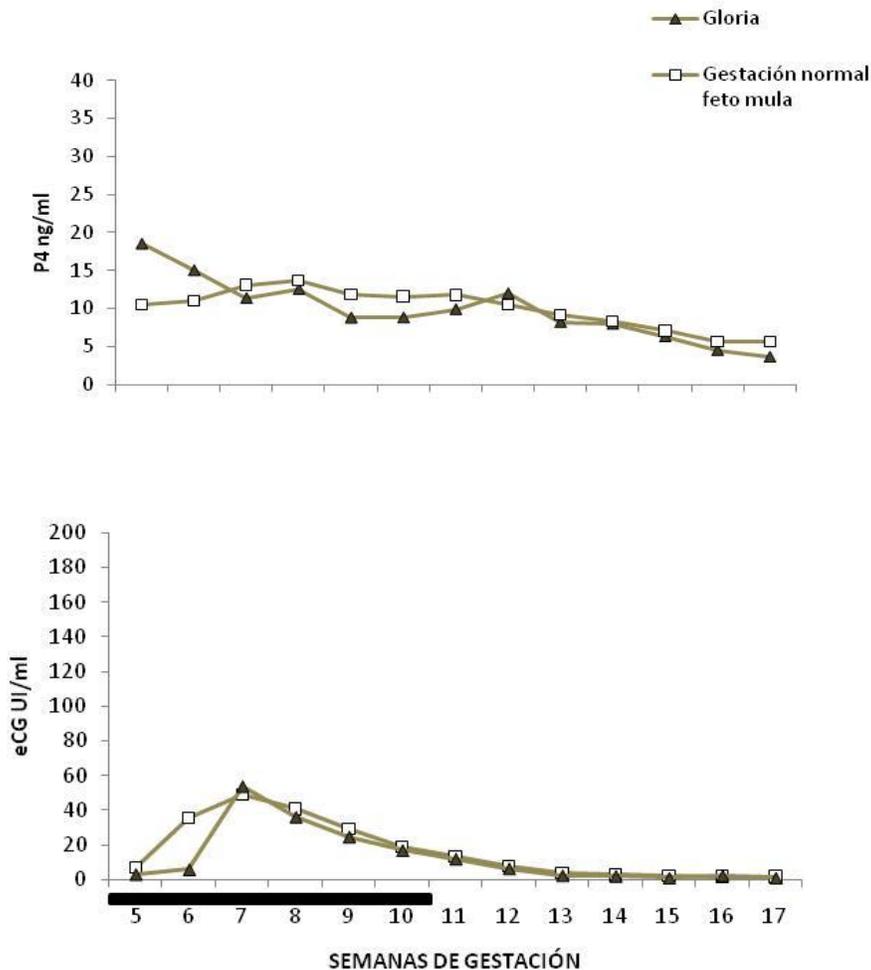


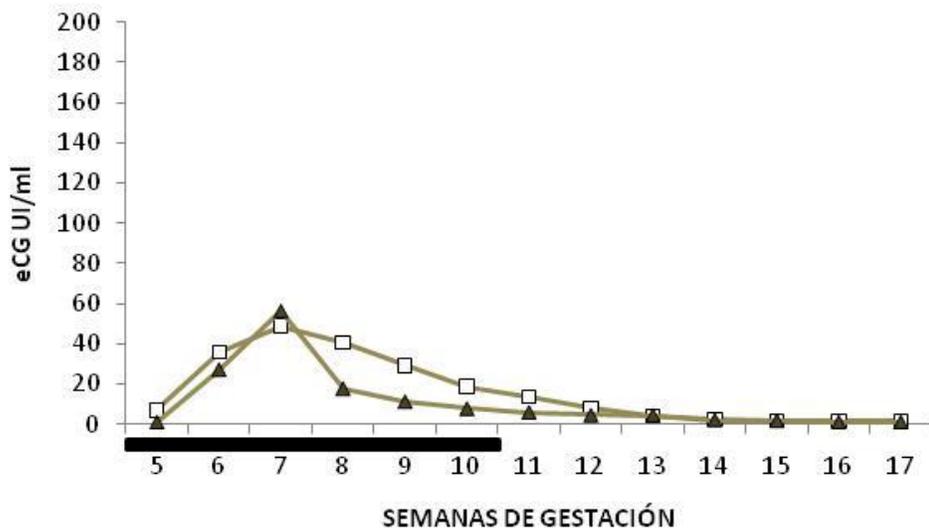
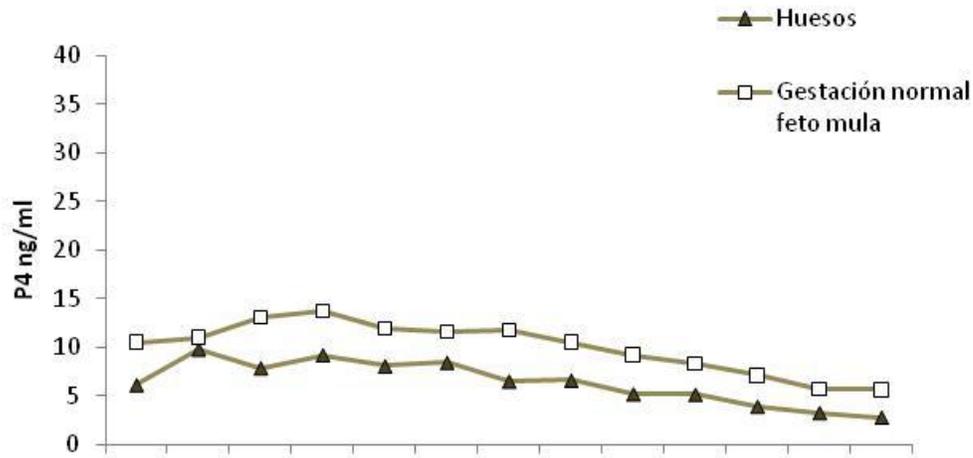
Fig. 15 Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una una gestación normal a pesar de que sus concentraciones de progesterona siempre fueron mucho más bajos que el promedio para gestaciones mulares normales. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo secundario. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest.

#### 4.6.2 Yeguas tratadas con altrenogest con concentraciones de progesterona y eCG iguales o superiores al promedio

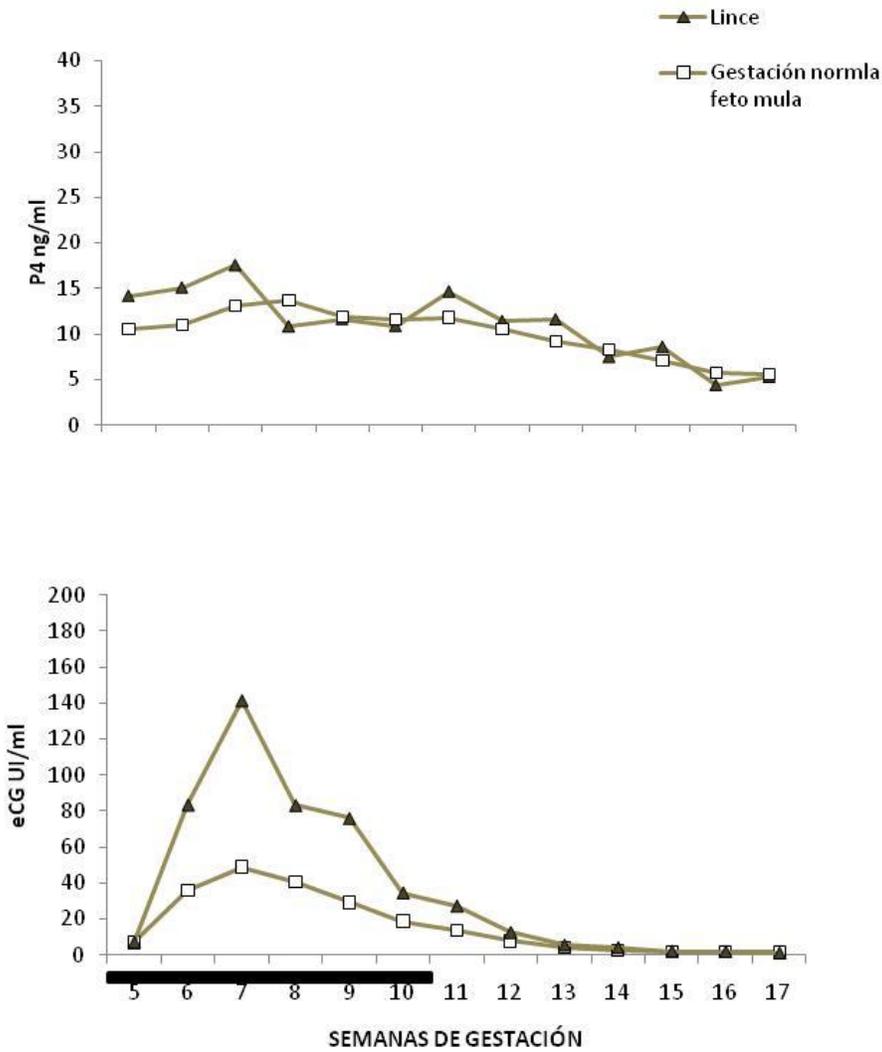
Las yeguas Gloria, Huesos, Lince, Alazana y Mía (figuras 16, 17, 18, 19 y 20 respectivamente) presentaron concentraciones de progesterona muy similares (figuras 16, 17 y 18) o superiores (figuras 19 y 20) al promedio de aquellas yeguas de su grupo que no abortaron. Las concentraciones de eCG de estas yeguas también fueron similares (figuras 16 y 17) o superiores (18,19 y 20) al promedio general de las yeguas de su grupo que no abortaron. Solamente dos de estas 5 yeguas formaron cuerpos lúteos suplementarios, una de ellas durante el tratamiento con altrenogest (figura 19) y la otra después de suspender dicho tratamiento (figura 20).



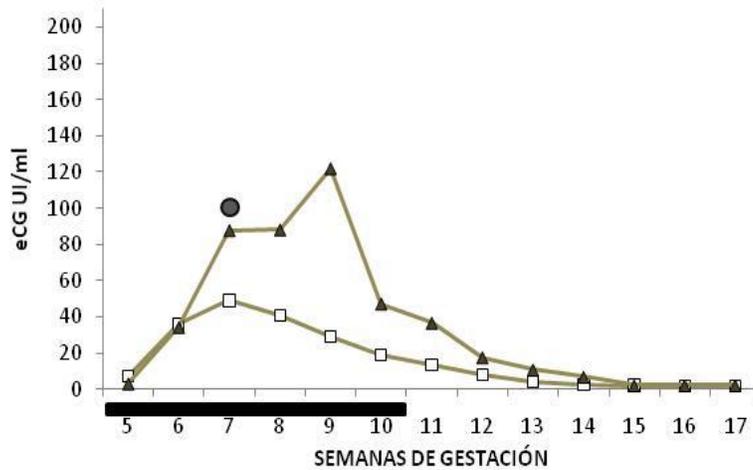
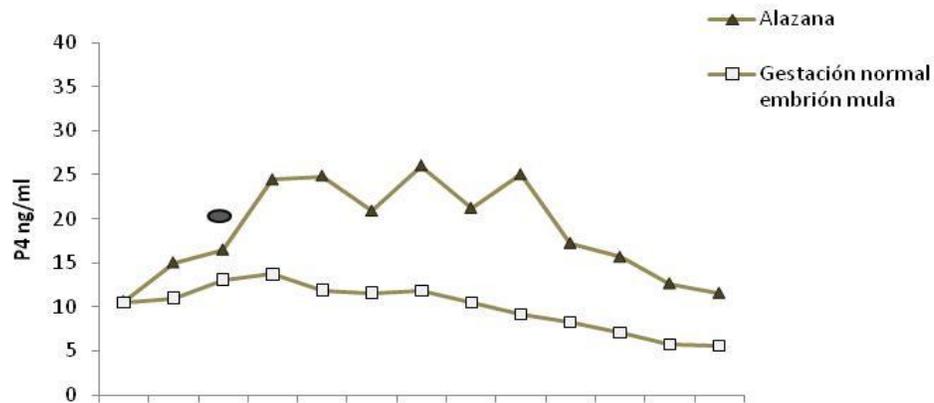
**Fig. 16** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una una gestación normal. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest. Esta yegua no formó cuerpos lúteos suplementarios.



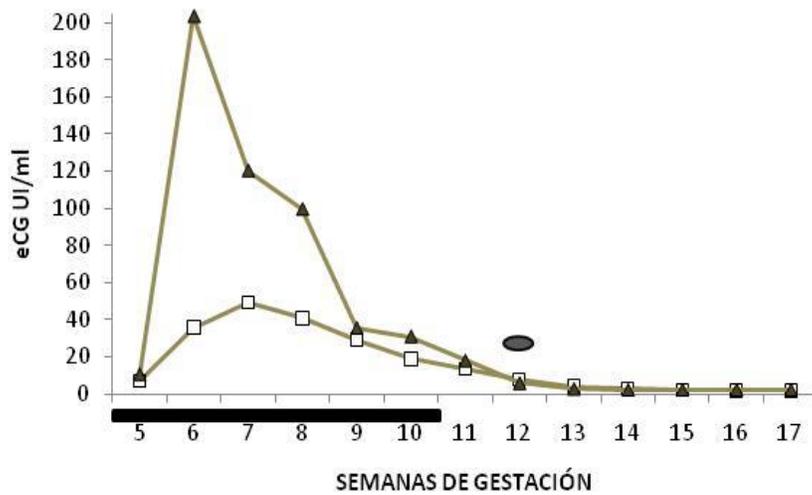
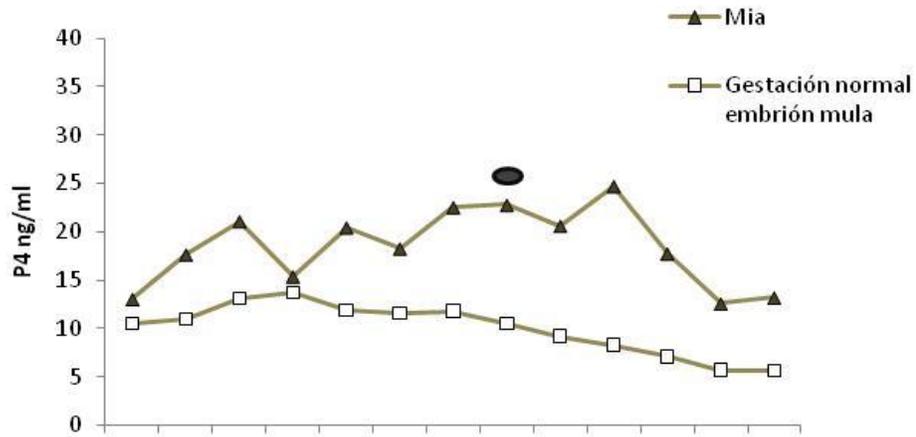
**Fig. 17** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest. Esta yegua no formó cuerpos lúteos suplementarios.



**Fig. 18** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal. Las concentraciones de progesterona de esta yegua fueron similares a las del promedio para el grupo a pesar de secretar cantidades de eCG superiores al promedio. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest. Esta yegua no formó cuerpos lúteos suplementarios.



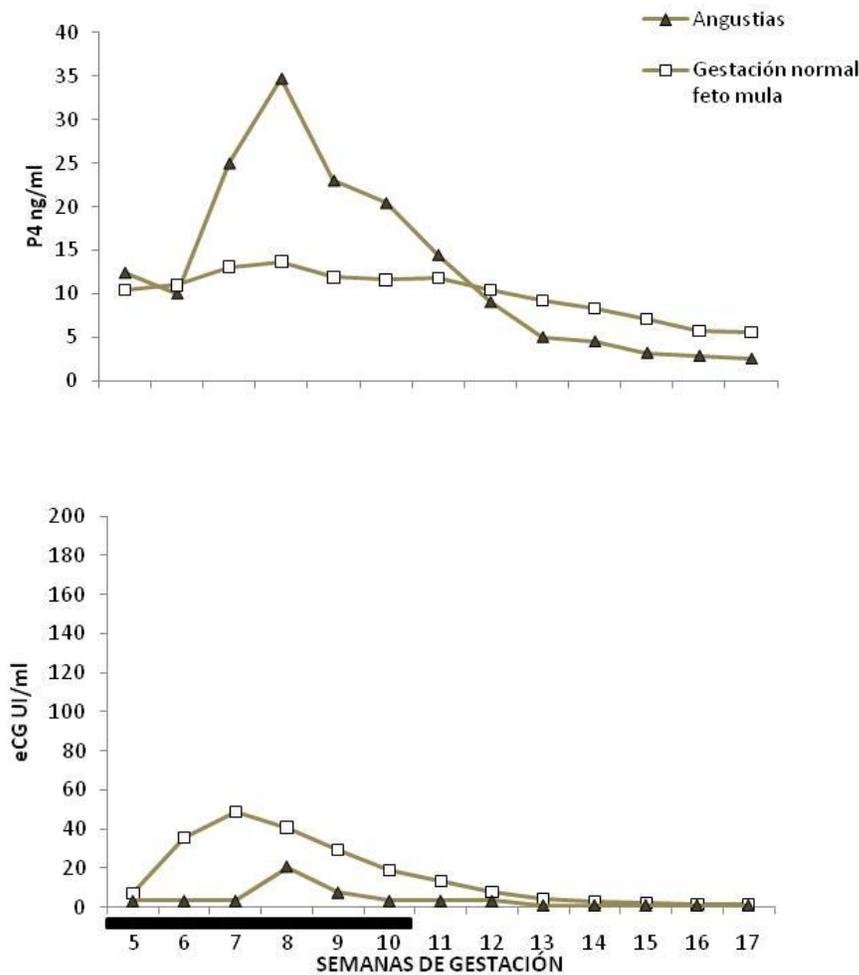
**Fig. 19** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal y concentraciones de progesterona y eCG superiores al promedio para el grupo. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja negra debajo de la gráfica indica el periodo de tratamiento con altrenogest.



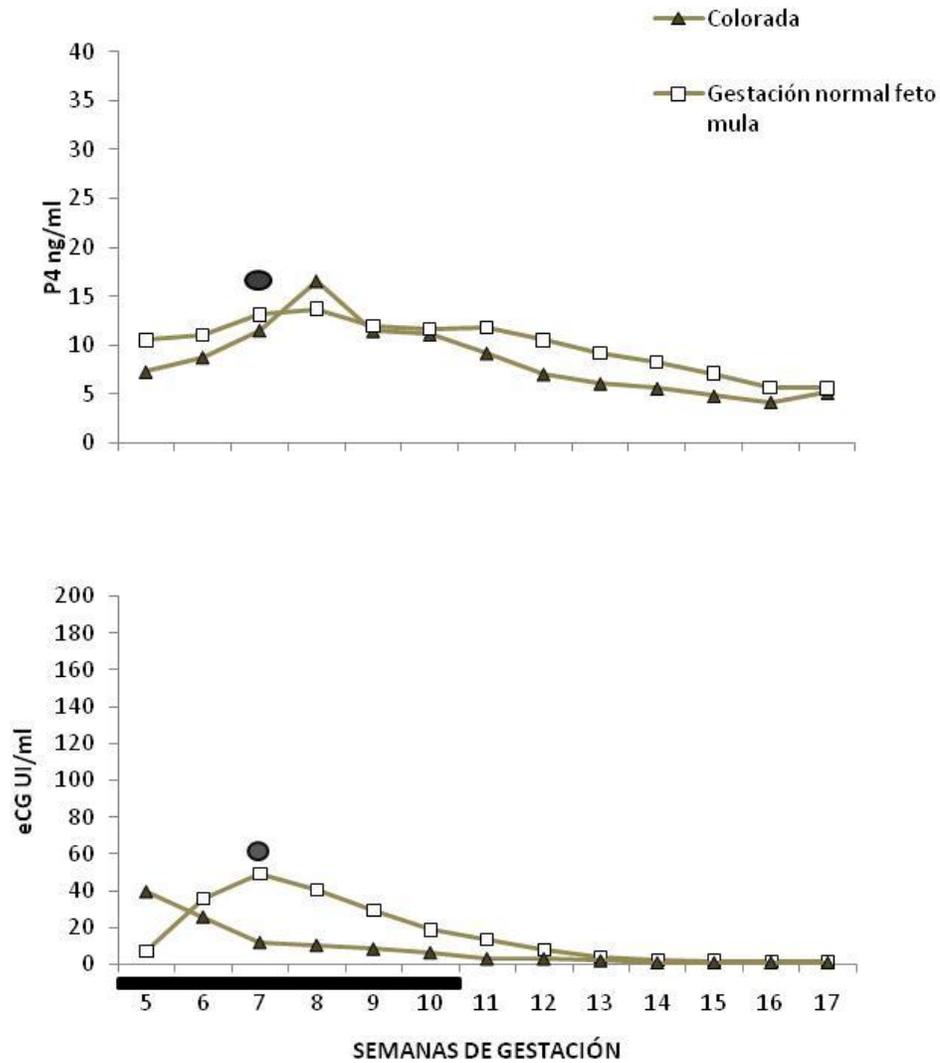
**Fig. 20** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo gestación normal. Las concentraciones de progesterona y eCG fueron superiores a las promedio para el grupo. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo secundario. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest.

#### 4.6.3 Yeguas tratadas con altrenogest que presentaron discrepancia entre sus concentraciones de progesterona y eCG

La yegua Angustias (figura 21) presentó entre las semanas 6 y 10 de la gestación concentraciones de progesterona muy superiores al de las yeguas de su grupo que no abortaron a pesar de que sus concentraciones de eCG fueron muy bajas y de que nunca formó un cuerpo lúteo suplementario. La yegua Colorada (figura 22) tuvo concentraciones de progesterona muy similares al promedio de las yeguas de su grupo que no abortaron a pesar de que sus concentraciones de eCG decrecieron en forma prematura. Esta yegua formó un cuerpo lúteo suplementario.



**Fig. 21** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest.



**Fig. 22** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua tratada con altrenogest que tuvo una gestación normal. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja negra debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest.

#### 4.7 Concentraciones hormonales y formación de cuerpos lúteos secundarios en yeguas testigo que no perdieron la gestación

##### 4.7.1 Yeguas testigo con concentraciones de progesterona y eCG similares al promedio para gestaciones normales en el grupo

Ocho de las yeguas del grupo testigo que tuvieron una gestación normal presentaron concentraciones de progesterona y eCG similares al promedio para este tipo de yeguas (figuras 23 a 30). Cinco de ellas (figuras 23, 24, 25, 27 y 30) formaron cuerpos lúteos secundarios antes del día 70 de la gestación. Otras dos (figuras 26 y 29) formaron cuerpos lúteos suplementarios después del día 70. Solamente una de ellas (figura 28) nunca formó cuerpos lúteos suplementarios. Las yeguas de las figuras 24 y 25 formaron cuerpos lúteos secundarios tanto antes como después del día 70.

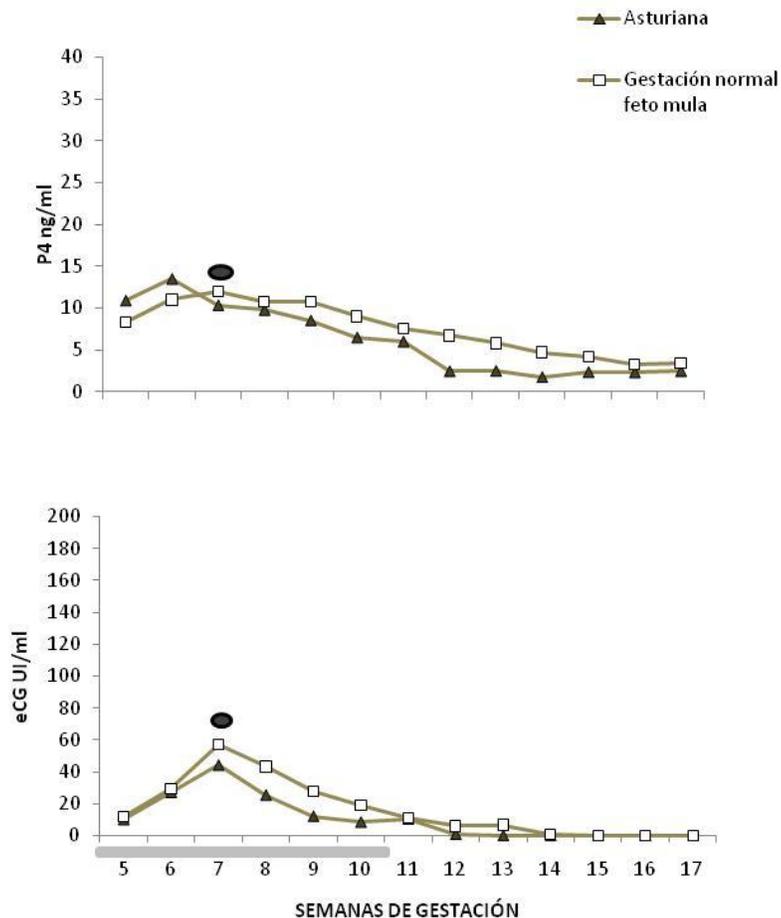
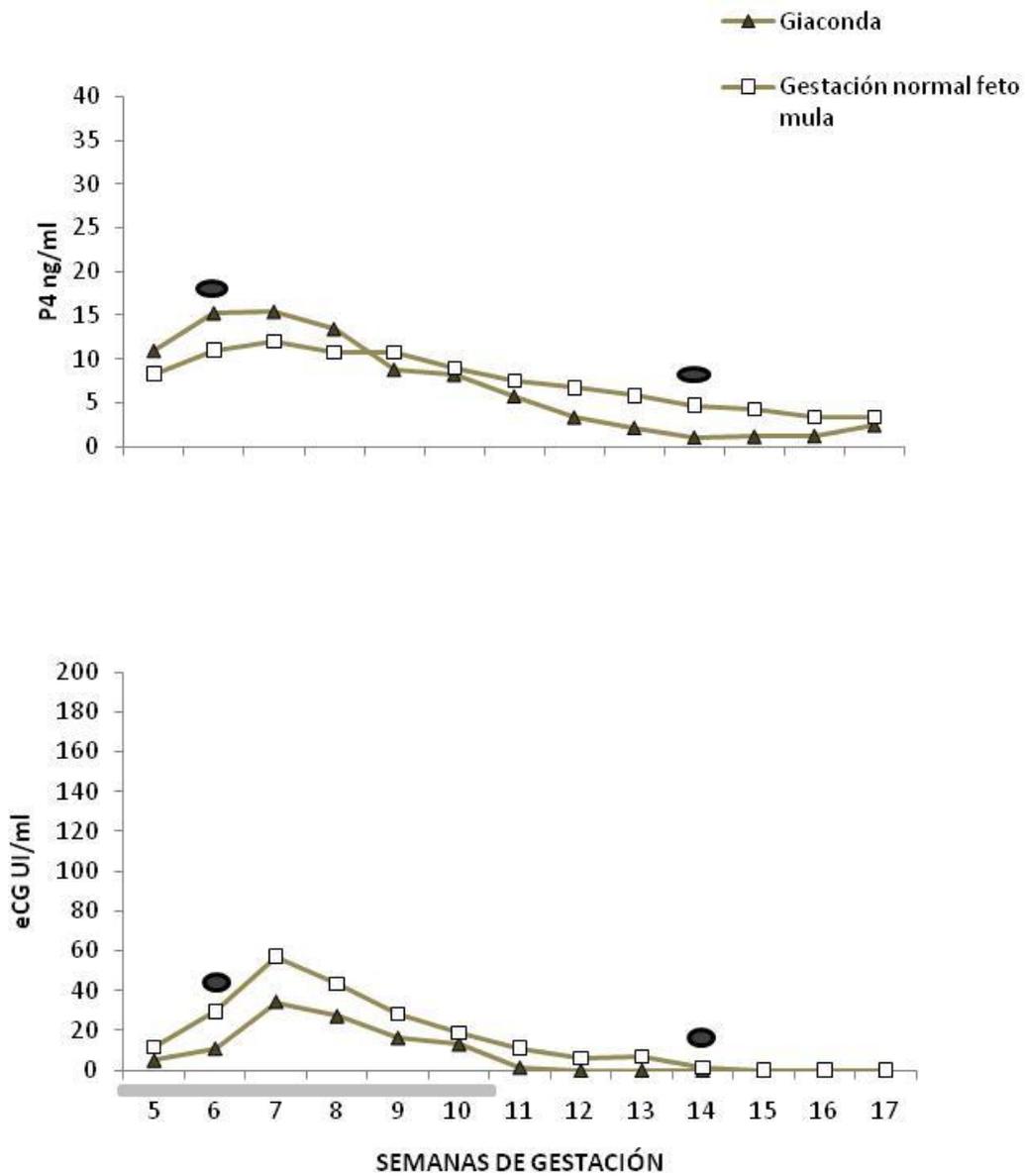


Fig. 23 Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest.



**Fig. 24** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican los momentos en que se formaron cuerpos lúteos suplementarios. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest.

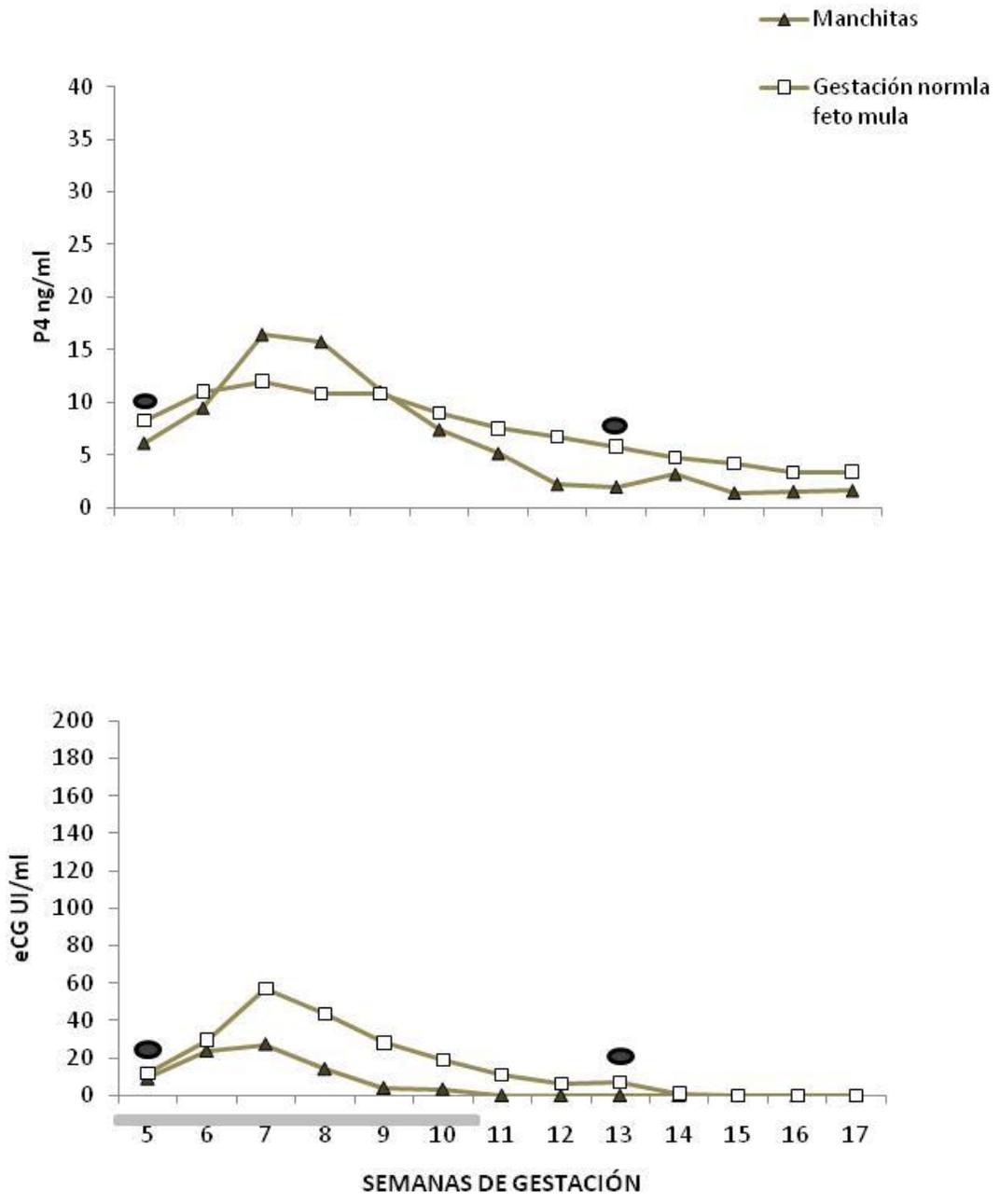
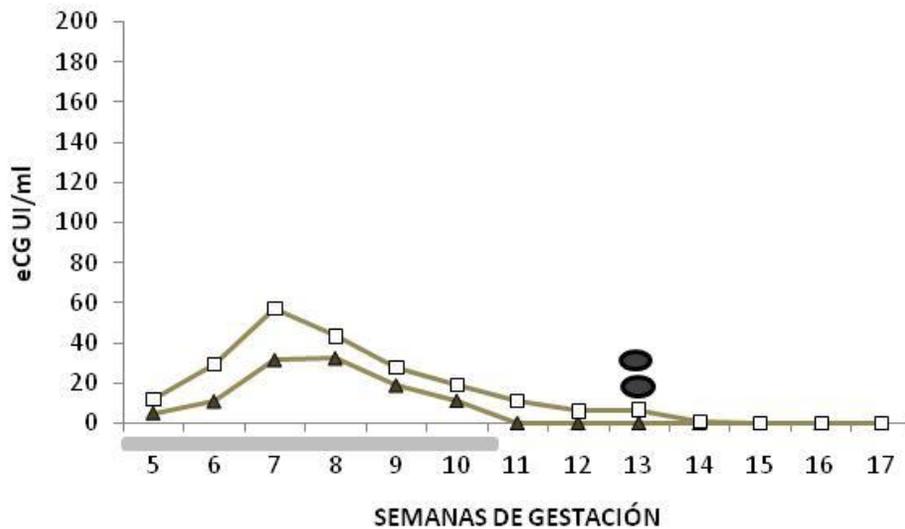
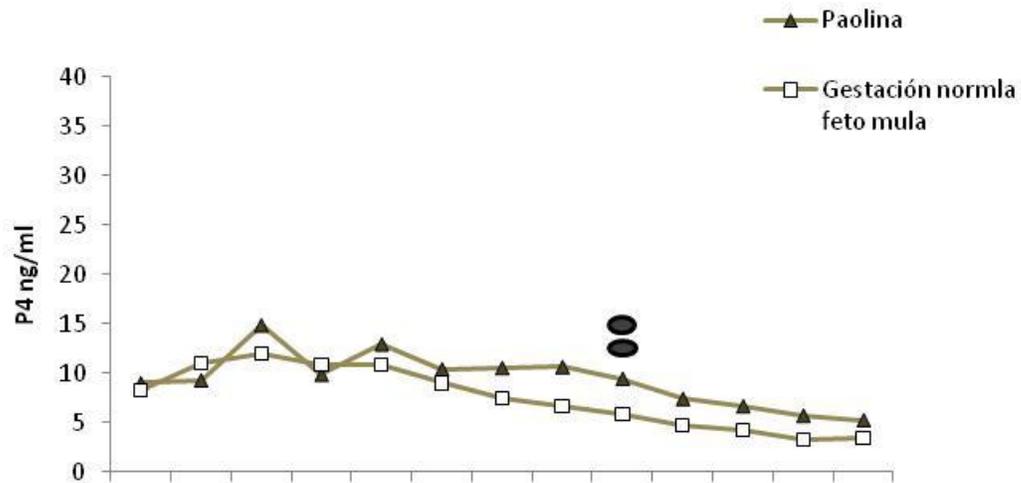
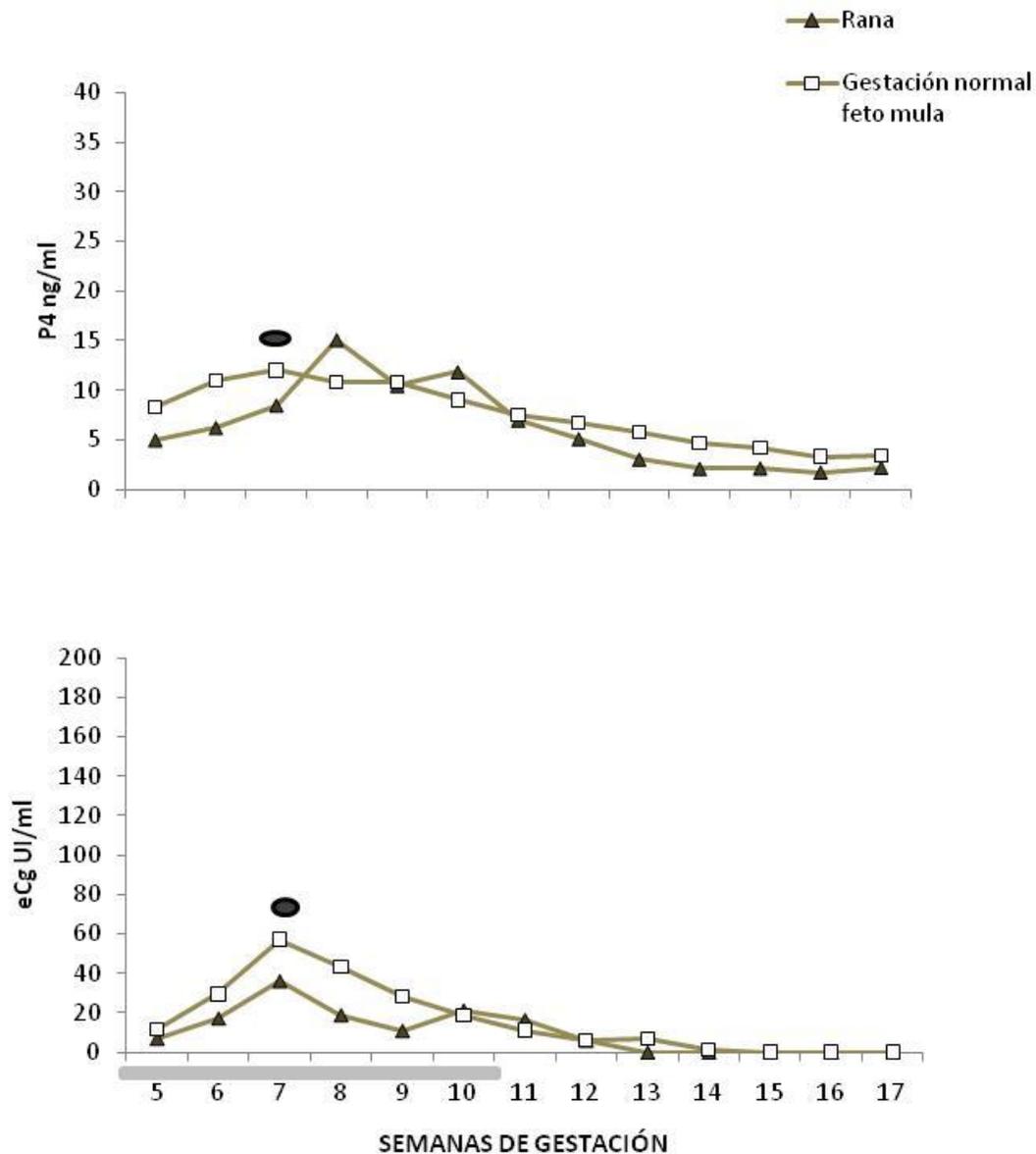


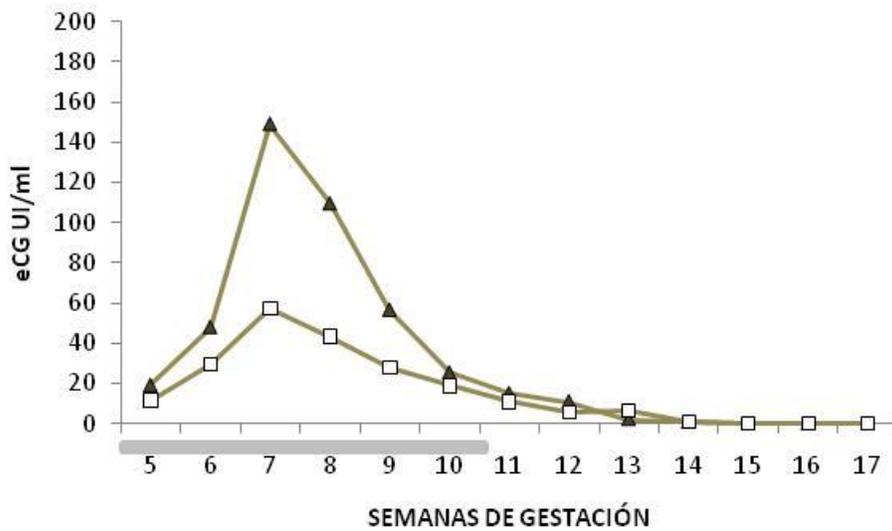
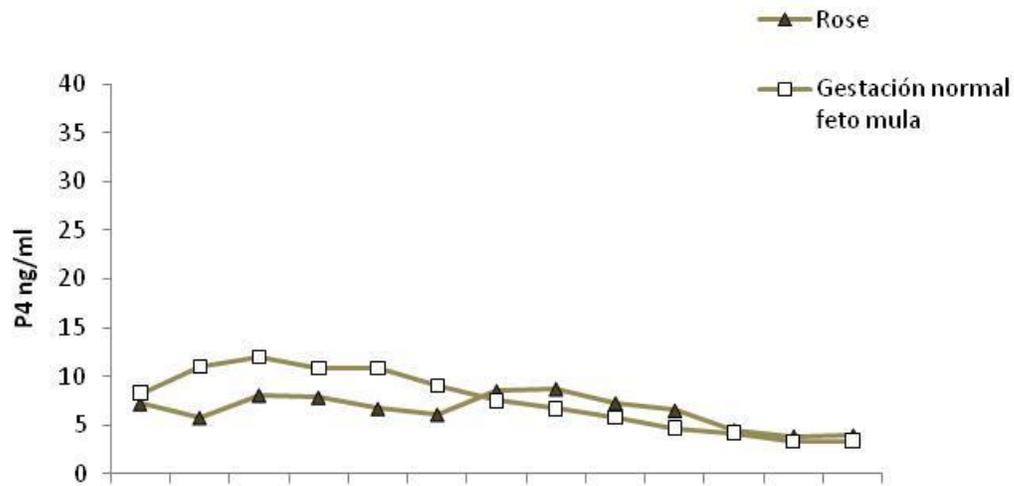
Fig. 25 Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican los momentos en que se formaron cuerpos lúteos suplementarios. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest



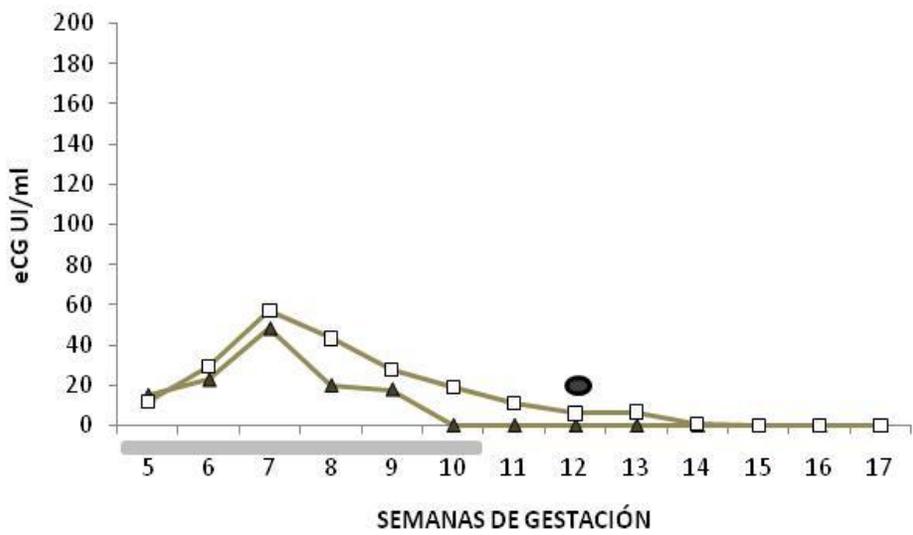
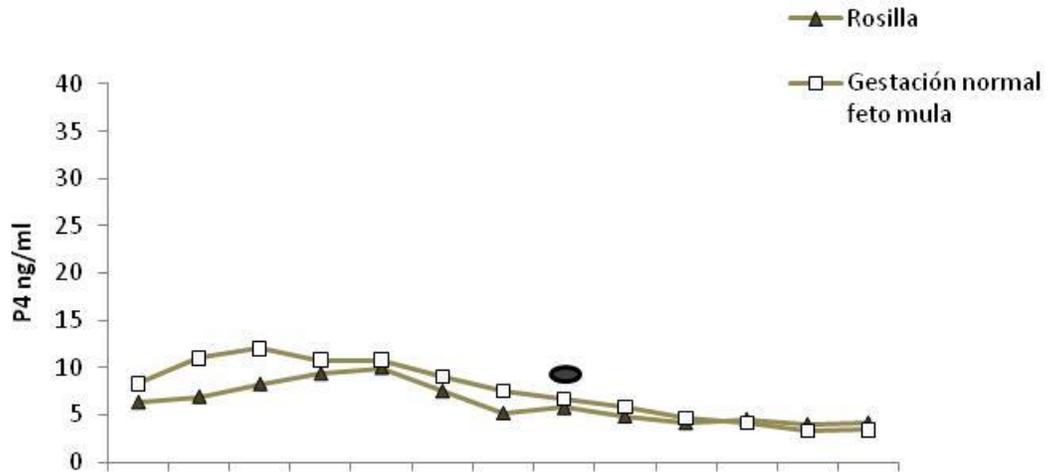
**Fig. 26** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican el momento en que se formaron dos cuerpos lúteos suplementarios en diferentes días pero dentro de la misma semana (día 92 y 97 de gestación). La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest.



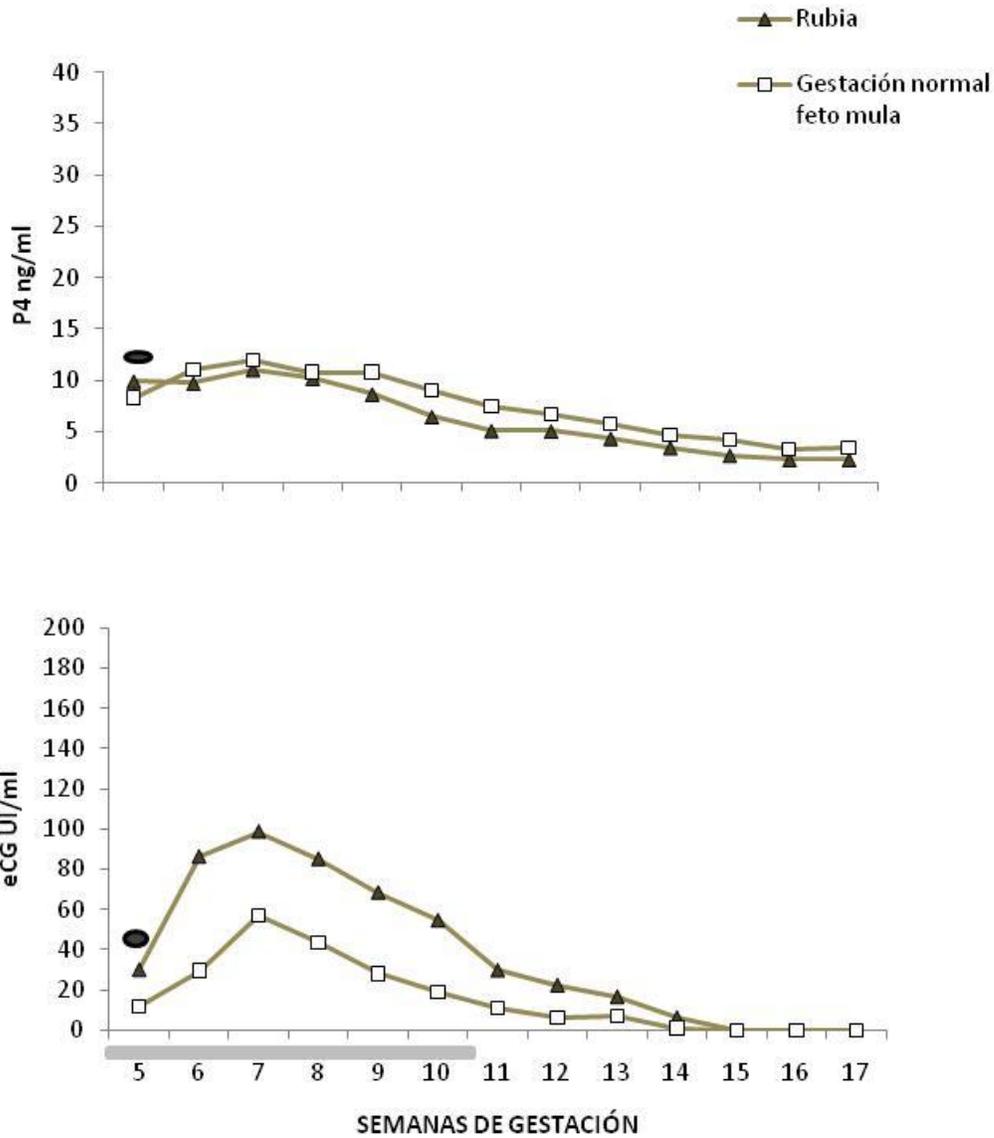
**Fig. 27** Concentraciones de P4 y eCg en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest.



**Fig. 28** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Esta yegua no formó cuerpos lúteos suplementarios. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest.



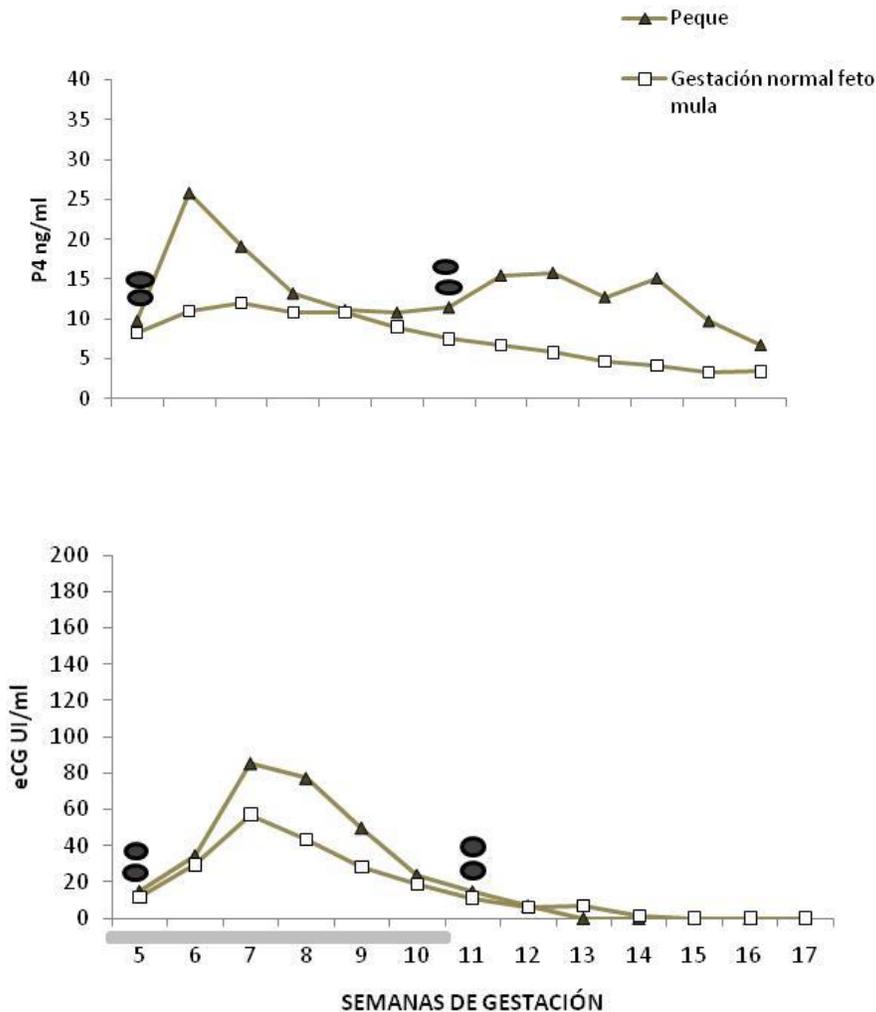
**Fig. 29** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest.



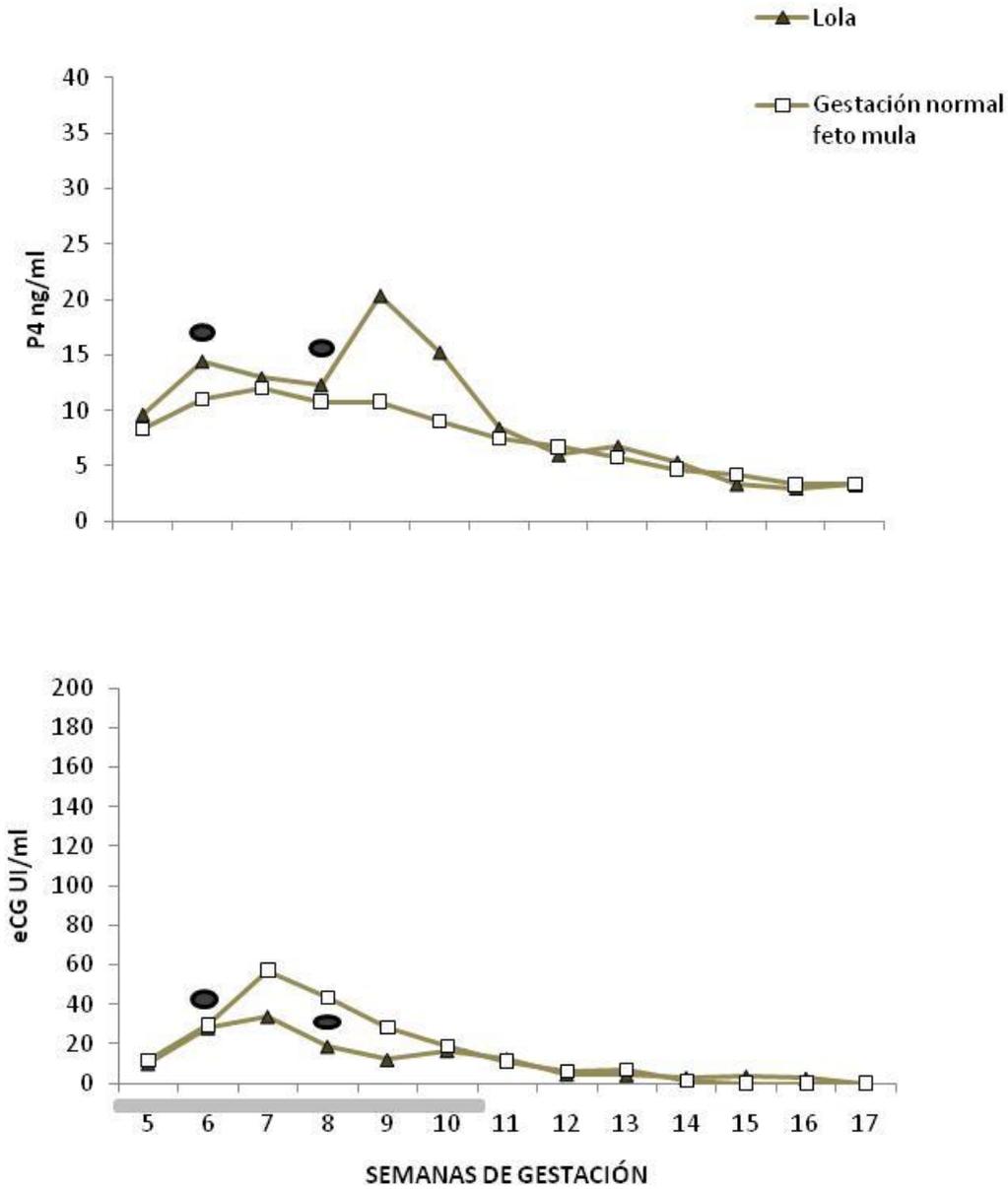
**Fig. 30** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja gris debajo de la gráfica indica el periodo durante el cual el grupo experimental estaba recibiendo el tratamiento con altrenogest.

#### 4.7.2 Yeguas testigo con gestaciones normales y concentraciones de progesterona marcadamente superiores al promedio del grupo

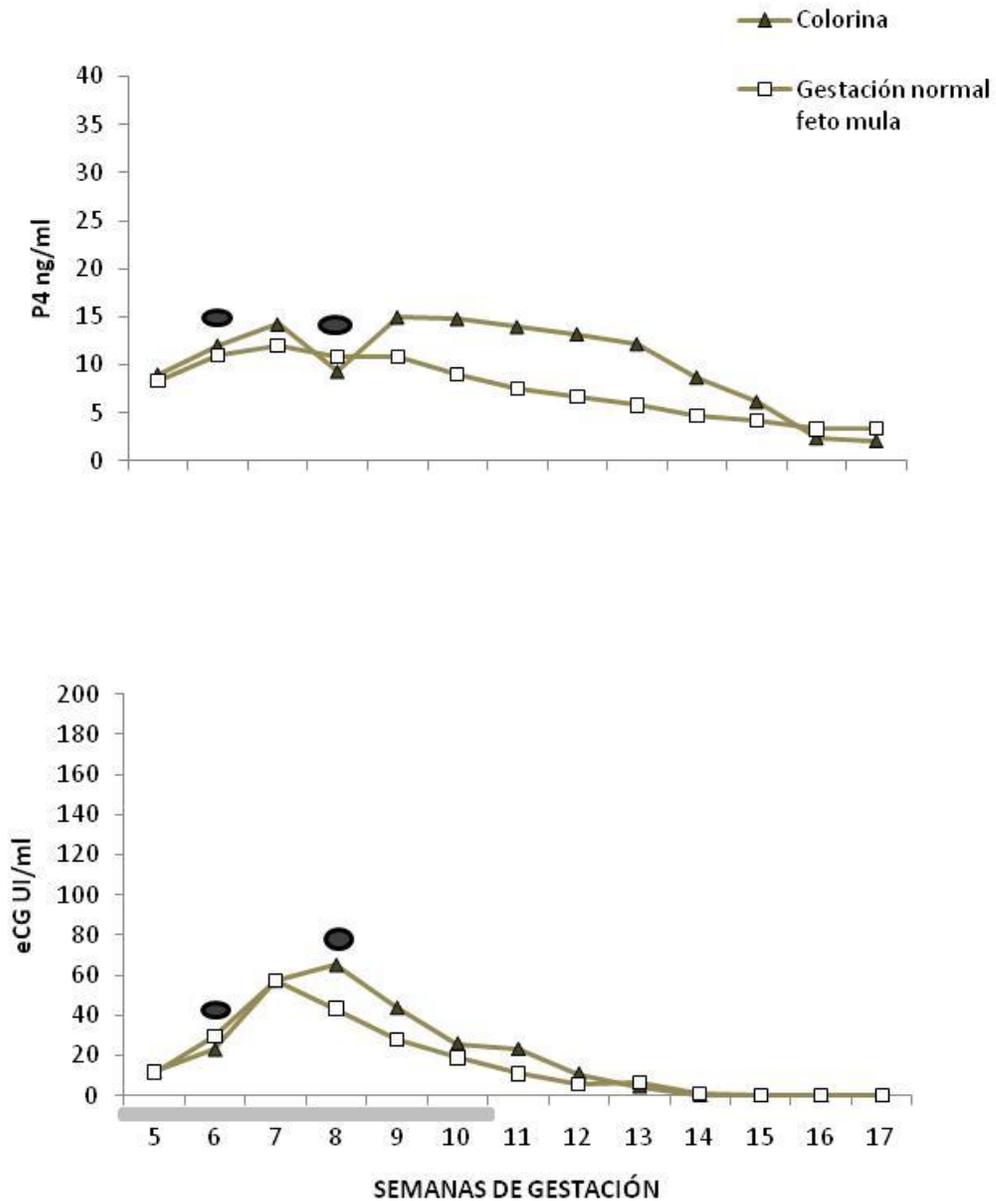
Tres de las yeguas del grupo testigo que tuvieron gestación normal presentaron concentraciones de progesterona considerablemente superiores al promedio de las yeguas testigo con gestación normal (figuras 31, 32 y 33). Todas ellas formaron más de un cuerpo lúteo suplementario durante los primeros 70 días de la gestación. La yegua "Peque" (figura 31) formó dos cuerpos lúteos suplementarios simultáneamente en la semana 5 y otros dos, también simultáneos en la semana 11.



**Fig. 31** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal y que tuvo concentraciones de progesterona notoriamente elevadas. Los círculos indican el momento en que se formaron cuatro cuerpos lúteos suplementarios en diferentes días pero dentro de la misma semana (día 35, 40 y 79, 82 de gestación). La franja gris debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental.



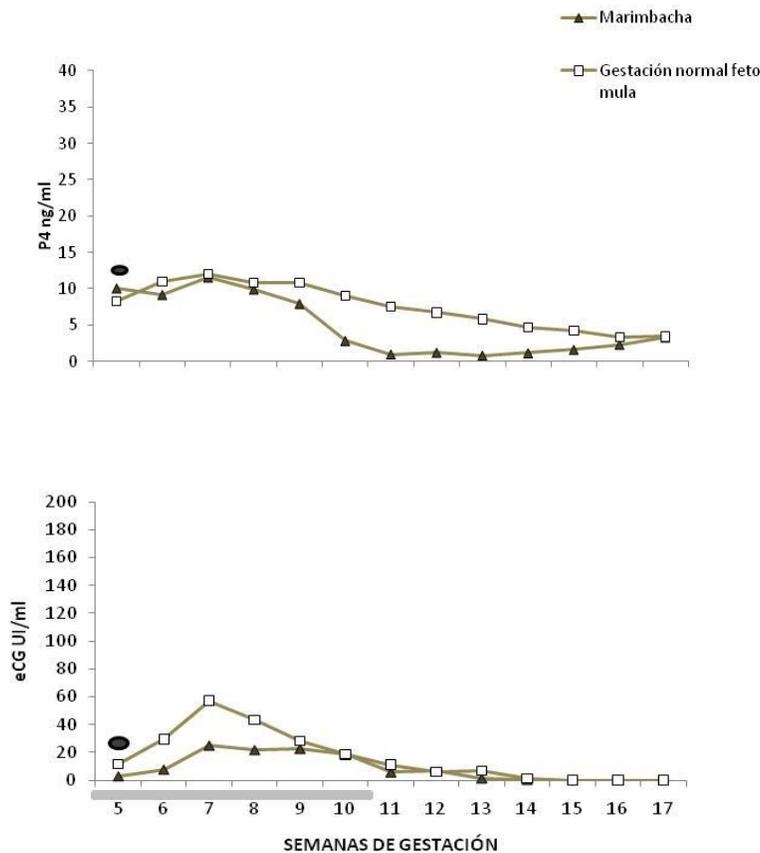
**Fig. 32** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal y concentraciones de progesterona elevadas entre las semanas 5 y 10 de la gestación. Los círculos indican los momentos en que se formaron cuerpos lúteos suplementarios. La franja gris debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental.



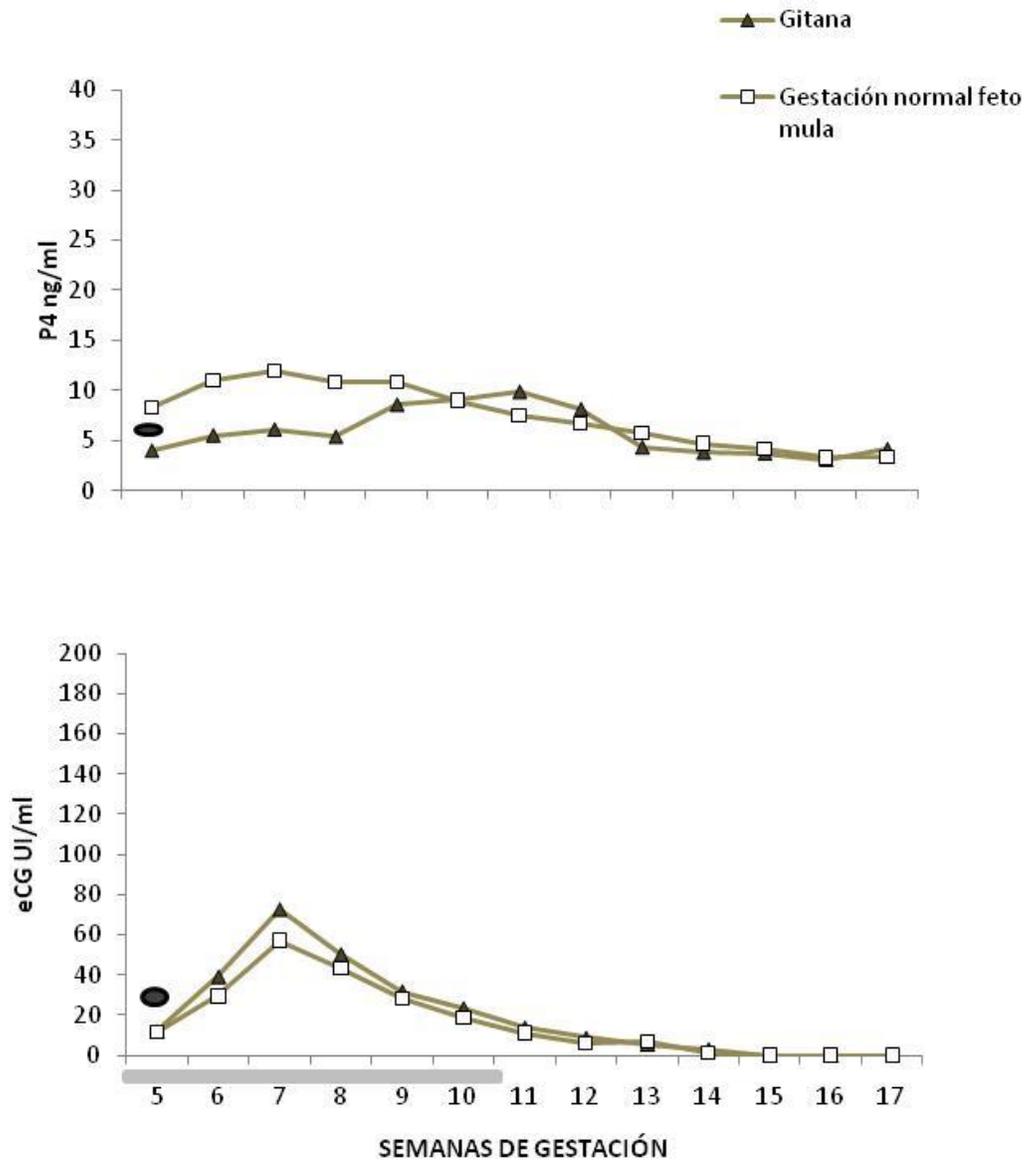
**Fig. 33 Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal y concentraciones de progesterona elevadas a partir de la semana 8 de la gestación. Los círculos indican los momentos en que se formaron cuerpos lúteos suplementarios. La franja gris indica el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental.**

#### 4.7.3 Yeguas testigo con gestaciones normales y concentraciones reducidas de progesterona

Dos yeguas del grupo testigo tuvieron gestación normal a pesar de haber presentado concentraciones de progesterona más bajas que el de las yeguas de su grupo con gestación normal durante alguna etapa de la gestación. La yegua Marimbacha (figura 34) presentó inicialmente concentraciones de progesterona similares a las del promedio del grupo y formó un cuerpo lúteo suplementario en la semana 5 pesar de tener concentraciones reducidas de eCG. A partir de la semana 10 en esta yegua se presentó una muy marcada caída en las concentraciones de progesterona, a pesar de lo cual no se perdió la gestación. La yegua “Gitana” mostró concentraciones reducidas de progesterona entre las semanas 5 y 10 a pesar de tener concentraciones adecuadas de eCG y haber formado un cuerpo lúteo suplementario en la semana 5.



**Fig. 34** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal a pesar de tener concentraciones muy bajas de progesterona después de la semana 10. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja gris debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental.



**Fig. 35** Concentraciones de P4 y eCG en diferentes semanas de gestación en una yegua testigo con gestación normal que tuvo concentraciones reducidas de progesterona entre las semanas 5 y 9 de la gestación. Los círculos indican el momento en que se formó un cuerpo lúteo suplementario. La franja gris debajo de las gráficas indica el periodo de tratamiento con altrenogest en el grupo experimental.

## 5. DISCUSION

### **Incidencia de abortos**

Durante los primeros 40 días de la gestación el cuerpo lúteo primario es mantenido por la LH hipofisaria, mientras que en etapas posteriores es estimulado por la eCG (Daels *et al.*, 1989; Saint-Dizier *et al.*, 2003). Sin embargo, en la gestación mular la deficiente función de las copas endometriales y su rápida regresión entre la semana 7 y la 11 provoca que las concentraciones de eCG se eleven menos que en las gestaciones con embrión equino, lo que también resulta en menores concentraciones de progesterona en las gestaciones mulares a partir de la octava semana de gestación (Boeta y Zarco, 2005; 2010).

Aunque la mayoría de las yeguas gestantes con producto mula presentan concentraciones mucho menores de eCG y progesterona que las yeguas gestantes con producto equino, existen variaciones individuales que resultan en un número de yeguas gestantes con producto mula prácticamente que no producen eCG, mostrando solamente una pequeña elevación durante una o dos semanas o inclusive manteniendo niveles basales en todo momento (Boeta y Zarco, 2005). Sin embargo, a pesar de esta ausencia casi total o parcial de eCG, muchas de estas yeguas logran mantener una producción de progesterona suficiente y llevar a término su gestación, por lo que se ha sugerido que sus cuerpos lúteos podrían ser mantenidos por LH hipofisaria (Boeta y Zarco, 2005).

Allen y colaboradores en 1987 utilizaron un modelo de gestación con nula producción de eCG, lo cual fue logrado mediante la transferencia de embriones de burro a yeguas. En esas gestaciones el cuerpo lúteo primario se mantenía funcionando durante los primeros 3 meses de la gestación a pesar de la ausencia total de eCG, pero posteriormente se perdía la gestación. En un intento infructuoso por mantener por más tiempo las gestaciones, ellos administraron un progestágeno sintético. En las gráficas del trabajo de Allen *et al.* (1987) se advierte claramente que al administrar el progestágeno sintético se produjo una caída inmediata en las concentraciones de progesterona, lo que sugiere que el progestágeno sintético inhibió la secreción de LH, eliminando la única fuente de señales luteotrópicas en la yegua gestante con embrión burro.

Todo lo anterior sugiere que en la yegua gestante la eCG estimula la función lútea, pero que esta estimulación no es indispensable ya que la LH de origen hipofisiario es capaz de mantener la función lútea en casos de ausencia total de eCG, como ocurre al transferir embriones de burro a yeguas (Allen *et al.*, 1987) o en algunos casos de gestación mular en yeguas.

Los resultados del presente trabajo apoyan el redundante papel luteotrópico de la LH y la eCG ya que la administración de altrenogest suprimió rápidamente y en forma total la función lútea en las yeguas que nunca mostraron elevaciones en sus concentraciones de eCG (figuras 6, 7 y 8), pero no en aquellas con concentraciones de eCG típicas de una gestación mular (figuras 15, 16, 17) o en aquellas con concentraciones de eCG más altas de lo normal para gestaciones mulares (figuras 18, 19, 20).

Sin embargo, hubo otros casos en los que la administración de altrenogest en yeguas con concentraciones basales de eCG solamente resultó en una supresión parcial (figura 12) o tardía (figura 13) de la función lútea, lo que podría deberse a una supresión incompleta de la secreción de LH por el altrenogest. Alternativamente, algunos cuerpos lúteos de la yegua gestante podrían mantener temporalmente una función suficiente sin necesidad de un soporte luteotrópico.

A pesar de la importancia de la LH para mantener la función lútea durante gestaciones carentes de eCG, los resultados de este trabajo sugieren que en presencia de cantidades suficientes de eCG la LH deja de ser requerida para mantener una función lútea normal, ya que las yeguas que produjeron concentraciones de eCG más elevadas de lo normal para gestaciones mulares tuvieron también concentraciones más altas de progesterona a pesar de estar recibiendo altrenogest (figuras 18, 19, 20). Esto sugiere que durante gestaciones equinas normales (yeguas servidas con caballo) la función lútea es estimulada básicamente por la eCG, ya que dichas yeguas tienen concentraciones de eCG mucho más elevadas que las observadas en yeguas gestantes con embrión mula, por lo que también tienen concentraciones más elevadas de progesterona (Boeta y Zarco, 2005)

Debido a que el tratamiento con altrenogest solamente afectó la función lútea de algunas yeguas que tenían concentraciones excesivamente bajas de eCG, las concentraciones promedio de progesterona encontradas en el grupo tratado y el control fueron muy similares y no se encontraron diferencias significativas entre grupos. Dichos patrones hormonales coinciden con lo encontrado por otros autores (Allen, 1984; Allen y Stewart 1993; Boeta y Zarco, 2005). Esto sugiere que solamente una proporción de las yeguas con gestación mular producen cantidades tan pequeñas de eCG que mantienen una dependencia hacia la LH. En el resto de los casos, aunque las concentraciones de eCG son mucho menores que las de las yeguas gestantes con caballo, parecen ser suficientes para mantener una función lútea adecuada aún cuando la LH es suprimida mediante la administración de altrenogest.

#### **Ocurrencia de ovulaciones suplementarias**

Aunque la LH no parece ser necesaria para mantener la función del cuerpo lúteo primario en yeguas con concentraciones adecuadas de eCG, sí parece ser muy importante para inducir la formación de cuerpos lúteos secundarios, ya que solamente un 20 % (3/15) de las yeguas tratadas con altrenogest formaron un cuerpo lúteo suplementario durante el periodo de administración del progestágeno (semana 5 a 10), mientras que el 73 % (11/13) de las yeguas no tratadas lo hicieron, siendo esta diferencia significativa ( $p < 0.01$ ).

Las dos yeguas que si lograron formar un cuerpo lúteo suplementario durante el tratamiento con altrenogest lo hicieron inmediatamente después de mostrar una elevación repentina de eCG, que podría haber sido interpretada como un pico preovulatorio de LH. Otros autores han encontrado que al administrar un progestágeno a yeguas gestantes con feto equino se siguen presentando ovulaciones secundarias y/o accesorias entre los 32 y 85 días de la gestación, las que son seguidas por aumentos en las concentraciones de progesterona plasmática (Voller *et al.*, 1991), lo que sugiere que las concentraciones de eCG presentes durante una gestación con embrión equino

son en la mayoría de los casos, suficientes para inducir la ovulación en ausencia de secreción de LH provocada por la administración de progestágenos.

Para un desarrollo normal de los cuerpos lúteos suplementarios se ha considerado que se requiere la eCG. Este concepto es apoyado por los resultados del presente trabajo, en el que no se encontró la formación de CL suplementarios en ninguna yegua con ausencia total de eCG, tratada o no tratada con altrenogest. Por otra parte, la gestación puede ser mantenida por varias semanas y aún continuar hasta su término sin la presencia de eCG y cuerpos lúteos secundarios, lo que sugiere que en esos casos la LH hipofisiaria se hace cargo de mantener una función lútea suficiente por parte del cuerpo lúteo primario. De esta forma, como lo sugirió Allen (2001a), la progesterona producida por los cuerpos lúteos secundarios no es indispensable para el mantenimiento de la gestación, simplemente permiten asegurar una fuente extra de progesterona en caso de una regresión prematura del cuerpo lúteo primario.

En el presente trabajo se realizó por primera vez un intento en determinar que la retroalimentación negativa sobre la secreción de LH materna provocada por la administración de un progestágeno sintético provocaría una pérdida de la función del cuerpo lúteo primario y consecuentemente la pérdida de la gestación al retirar el progestágeno, administrando una dosis del altrenogest del doble de la recomendada para la sincronización de estros. Esta dosis, de 0.088 mg/kg fue utilizada para aumentar la probabilidad de inhibir la secreción de LH, ya que se ha encontrado que esta dosis provoca un retraso en el desarrollo folicular y la ovulación mayor al provocado por la dosis convencional de 0.044 mg/ml (James et al 1997; Bruemmer et al., 2000; Lee, 2003). En este sentido, Lofstedt y Patel (1989) informaron que la dosis convencional de altrenogest inhibe muy poco la secreción de LH. Otros investigadores han empleado la dosis de 0.088 mg/kg para evaluar sus efectos sobre la secreción de LH y progesterona en yeguas no gestantes (Bruemmer et al., 2000) Así mismo Wiepz et al., 1988 demostró que el altrenogest puede suprimir o reducir las concentraciones de LH.

En el presente trabajo, las concentraciones de eCG en las yeguas con embrión mula, aunque muy reducidas, fueron en la mayoría de los casos suficientes para mantener una función lútea adecuada independiente de la secreción materna de LH, lo que permitió el mantenimiento de la gestación hasta su término. Solamente en algunos casos con nula secreción de eCG se produjo una completa supresión de la función lútea en respuesta a la administración de altrenogest, lo que fue seguido por aborto (figuras 6, 7, 8, 9). Estos resultados son difíciles de interpretar debido a que 3 de los 4 abortos ocurrieron cuando las yeguas aún estaban siendo tratadas con el altrenogest, y se ha demostrado que este progestágeno sintético es capaz de mantener la gestación aún en yeguas ovariectomizadas (Hinrichs *et al.*, 1986; Luliano y Squires, 1986; Voller *et al.*, 1991). Es posible que durante la administración de altrenogest se pase por una fase en la que las concentraciones de la hormona sean suficientes para suprimir la secreción de LH y por lo tanto la función lútea en yeguas carentes de eCG, pero insuficientes para mantener la gestación por si mismas.

En el presente trabajo se encontraron algunas yeguas que mantuvieron la gestación a pesar de que la administración del altrenogest les provocó una reducción importante (pero no una supresión total) en su secreción de progesterona (figuras 12, 13, 14, 16, 17). También mantuvieron su gestación varias yeguas del grupo testigo que produjeron menos progesterona de lo normal antes (figuras 26, 33) o después (figura 29) del día setenta de la gestación, lo que ya ha sido observado en el pasado en yeguas con gestación mular (Boeta y Zarco, 2005). Estos resultados indican que el umbral de progesterona necesario para mantener la gestación en el equino puede ser mucho más bajo que las concentraciones que normalmente se alcanzan durante la gestación. Esto ha sido comprobado experimentalmente al menos para etapas muy tempranas de la gestación, ya que Knowles *et al.* (1993) diseñaron un experimento para determinar la relación entre las concentraciones de progesterona y la supervivencia del embrión durante la gestación temprana. Ellos transfirieron embriones a yeguas receptoras ovariectomizadas que recibieron 100 o 1500 mg diarios de progesterona inyectable, lo que les produjo concentraciones de progesterona de 2.2 y 25.2 ng/ml, respectivamente en el día de la transferencia de los embriones. Además transfirieron embriones a yeguas intactas que tenían un promedio de progesterona de 8.8 ng/ml al momento de la transferencia. Las tasas de gestación fueron similares entre los grupos.

Una limitante del presente trabajo es la imposibilidad de medir las concentraciones de LH en yeguas gestantes. Esto se debe a que la secuencia de aminoácidos de la eCG y la LH equina es idéntica, por lo que los anticuerpos producidos contra cualquiera de las hormonas tienen reacción cruzada con la otra. Dado que las concentraciones de eCG son entre 100 y 1,000 veces más elevadas que las de LH y es imposible determinar lo que ocurre con esta última hormona. En yeguas no gestantes se ha demostrado que existen variaciones importantes en la absorción y metabolismo del altrenogest, por lo que también existe variación individual en la dosis requerida para lograr la transformación del endometrio y la retroalimentación negativa ejercida sobre la LH hipofisiaria (Schindler *et al.*, 2003). De esta forma, es imposible asegurar que la dosis de altrenogest utilizada en el presente trabajo haya sido 100 % efectiva para lograr una retroalimentación negativa sobre la LH hipofisiaria. Esto sugiere la necesidad de realizar investigación adicional utilizando un método más directo para suprimir la secreción de LH, como lo sería el uso de antagonistas de GnRH (Denniston *et al.*, 2006). Este método tendría la ventaja adicional de que el antagonista de GnRH, a diferencia del altrenogest, no es por sí mismo capaz de mantener una gestación, por lo que se evitaría la interferencia provocada por dicho efecto de los progestágenos exógenos.

## 6. CONCLUSIONES

Se concluye que la retroalimentación negativa provocada por el altrenogest sobre la secreción de LH evita la formación de cuerpos lúteos suplementarios y resulta en concentraciones bajas de progesterona en aquellas yeguas con concentraciones excesivamente bajas de eCG, lo que en ocasiones se asocia con aborto. En yeguas con concentraciones de eCG similares al promedio para gestaciones mulares la inhibición de la secreción de LH por administración de altrenogest no reduce la secreción de progesterona.

Los resultados del presente trabajo muestran que las yeguas tratadas con altrenogest sugieren que son más susceptibles a perder la gestación y a desarrollar menos ovulaciones suplementarias que aquellas que no recibieron tratamiento.

Por otra parte, es evidente que la retroalimentación negativa ejercida por el altrenogest (regumate) sobre la secreción de LH no fue suficiente para inhibir la función lútea (no hay diferencia en las concentraciones de progesterona entre el grupo experimental y el testigo, pero sí fue suficiente para impedir la formación de nuevos cuerpos lúteos y como la producción de progesterona no se afectó, los abortos que ocurrieron no tuvieron nada que ver con el tratamiento, sino que se trató de los abortos que comúnmente ocurren en yeguas servidas con burros.

## 7. LITERATURA CITADA

Adams AP, Antczak DF. Ectopic transplantation of equine invasive trophoblast. *Biol Reprod* 2001; 64: 753-763.

Allen WR, Hamilton DW, Moor RM. The origin of equine endometrial cups. II. Invasion of the endometrium by trophoblast. *Anat Rec* 1973; 177: 475-501.

Allen WR. Immunological aspects of the endometrial cup reaction and the effect of xenogeneic pregnancy in horses and donkeys. *J Reprod Fert Suppl* 1982; 31: 57-942.

Allen WR. Hormonal control of early pregnancy in the mare. *Anim Reprod Sci* 1984; 7: 283-304.

Allen WR, Kydd JH, Boyle MS, Antczak DF. Extraspecific donkey-in-horse pregnancy as a model of early fetal death. *J Reprod Fert Suppl* 1987; 35: 197-209.

Allen WR, Kydd JH, Antczak DF. Interspecies and extra species equine pregnancies. In: McKinnon AO, Voss JL, editors. *Equine Reprod* Philadelphia: Lea and Febiger 1993a; 533-553.

Allen WR, Skidmore JA, Stewart F, Antczack DF. Effects of genotype and uterine environment on placenta development in equids. *J Reprod Fert* 1993b; 97:55-60.

Allen WR, Stewart MJ. Equine chorionic gonadotrophin. In: McKinnon AO, Voss JL, editors. *Equine Reprod* Philadelphia: Lea and Febiger 1993c; 81-96.

Allen WR, Short RV. Interspecific and extraspecific pregnancies in equids: Anything goes. *J Hered* 1997; 88: 384-392.

Allen WR. The physiology of early pregnancy in the mare. *Am. Asso. Equine Pract Proce* 2000; 46: 338-354.

Allen WR, Stewart F. Equine placentation. *Reprod Fert Dev* 2001; 13: 623-634.

Allen WR. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reprod Dom Anim* 2001a; 121:513-527.

Allen WR. Luteal deficiency and embryo mortality in the mare. *Reprod Dom Anim* 2001b; 36:121-131.

Allen WR. The development and application of the modern reproductive technologies to horse breeding. *Reprod Dom Anim* 2005; 40: 310-329.

Allen WR, Wilsher S. A review implantation and early placentation in the mare. *Placenta* 2009; 30:1005–1015.

Andaluza AS, Pérez MM, Cerbon CM, Camacho AI. Actividad secretora del oviducto de mamíferos domésticos durante la fertilización y el desarrollo embrionario temprano. *Cien Vet* 2003; 9 (4): 229-268.

Ball BA, Little TV, Weber JA, Woods GL. Survival of Day-4 embryos from young, normal mares and aged, subfertile mares after transfer to normal recipient mares. *J Reprod Fert* 1989; 85: 187-194.

Belin F, Goudet G, Duchamp G, Gerard N. Intrafollicular concentrations of steroids and steroidogenic enzymes in relation to follicular development in the mare. *Biol Reprod* 2000; 62: 1335-1343.

Bergfelt DR, Pierson RA, Ginther OJ. Resurgence of the primary corpus luteum during pregnancy in the mare. *Anim Reprod Sci* 1989; 21:261-270.

Bergfelt DR, Woods JA, Ginther OJ. Role of the embryonic vesicle and progesterone in embryonic loss in mares. *J Reprod Fert* 1992; 95: 339-347.

Bergflet DR, Adams GP. Ovulation and corpus luteum development. In: Samper JC. Current-Therapy in Equine Reproduction. St. Louis, Missouri, Saunders Company: Elsevier 2007: 1-13.

Betancourt-Alonso MA, Flores PF, Rosas VC, Pérez MM. Role of cytokines in embryo implantation in domestic mammals. *Vet Méx* 2006; 37 (3).

Blandchard TL, Varner DD, Shumacher J, Love CC, Brinsko SP, Rigby SR. *Man Equine Reprod*. Mosby, 2ª ed., USA. 2003:9-16.

Boeta M, Zarco L. Utilización de leche descremada ultrapasteurizada como diluyente de semen refrigerado de burro, destinado a la inseminación de yeguas. *Vet. Mex.* 31:67-69 (2000).

Boeta M, Zarco L. Pérdidas de gestación en yeguas servidas con caballo y burro. En: Zarco L, Boeta M. *Reprod Equina*, 2ª ed. UNAM, Mex. DF. 2000.

Boeta M, Zarco L. Progesterone and equine chorionic gonadotropin concentrations around the time of pregnancy loss in mares impregnated by donkeys or stallions. *J Equine Vet Sci* 2005; 25 (12): 531-536.

Boeta AM. Efecto de la época del año sobre la funcionalidad de las copas endometriales y la secreción de eCG en yeguas utilizadas para la producción de mulas (tesis de doctorado). D.F. (México) México: UNAM, 2008.

Boeta AM, Zarco L. Endocrine alterations around the time of abortion in mares impregnated with donkey or horse semen. *Anim Reprod Sci* 2010.

Bruemmer JE, Coy RC, Olson A, Squires EL. Efficacy of altrenogest administration to postpone ovulation and subsequent fertility in mares. *Equine Vet J* 2000; 20 (7): 450-453.

Chopineau M, Stewart F, Allen WR. Cloning and analysis of the cDNA encoding the horse and donkey luteinizing hormone beta-subunits. *Gene* 1995; 160(2): 253-256.

Daels PF, Starr M, Kindahl H, Fredriksson G, Hughes JP, Stabenfeldt GH. Effect of *Salmonella typhimurium* endotoxin on PGF<sub>2</sub> $\alpha$  release and fetal death in the mare. A review, *Equine Vet J Suppl* 1987; 35: 485-492.

Daels PF, Stabenfeldt GH, Kindahl H, Hughes JP. Prostaglandin release and luteolysis associated with physiological and pathological conditions of the reproductive tract in the mare. A review, *Equine Vet J Suppl* 1989; 8: 29-34.

Daels PF, Demoraes MJ, Stabenfeldt GH, Hughes JP, Lasley BL. The corpus luteum: a major source of estrogen during early pregnancy in the mare. *J Reprod Fert Suppl* 1991a; 44:501-508.

Daels PF, Ammon DC, Stabenfeldt GH, Liu IKM, Hughes JP, Lasley BL. Urinary and plasma estrogen conjugates, estradiol and estrone concentrations in nonpregnant and early pregnant mare. *Theriogenology* 1991b; 35: 1001-1017.

Daels PF, Albrecht BA, Mohammed HO. Equine Chorionic Gonadotropin regulates luteal steroid genesis in pregnant mares. *Bio Reprod* 1998; 59:1062-1068.

Daels PF. Hormonal therapy in pregnant mare. *Trattamento ormonale nella fattrice gravida. 16° Congresso Nazionale Multisala Sive. Annual Meeting of the Italian Association of Equine veterinarians. Perugia Italy. 2004.*

Denniston DJ, Crabb JJ, Bruemmer JE, Squires EL. Effects of gonadotropin-releasing hormone antagonist and altrenogest on luteinizing hormone concentration and ovulation in the mare. *J Equine Vet Sci* 2006; 26 (3).

Díaz FJ, Anderson LE, Wu YL, Rabot A, Tsai SJ, Wiltbank MC. Regulation of progesterone and prostaglandin F<sub>2</sub> alpha production in the CL. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 191:65-80.

Donalson WL, Zhang CH, Oriol JG, Antczak DF. Invasive equine trophoblast expresses conventional class I major histocompatibility complex antigens. *Dev* 1990; 110: 63-71.

Donalson WL, Orion JG, Plavin A, Antczak DF. Development regulation of class I major histocompatibility complex antigen expression by equine trophoblast cells. *Differentiation* 1992; 52: 79-78.

Douglas RH, Burns PJ, Hershman L. Physiological and commercial parameters for producing progeny for subfertile mares by embryo transfer. *Equine Vet J Suppl* 1985; 3:111-114.

Drew B. The effect of excess dietary iodine on pregnant mares and foals. *Vet Rec* 1975; 97: 93-95.

Flood PF. Fertilization, early development, and the establishment of the placenta. In: Mckinnon AO, Voss JL. Lea and Fabiger. Philadelphia: *Equine Reprod* 1993: 473-485.

Gastal EL, Rodriguez BL, Gastal MO, Beg MA, Ginther OJ. Responsiveness of the corpus luteum to PGF<sub>2</sub> alpha and resulting progesterone, LH and FSH interrelationships in mares. *Anim Reprod* 2005; 2: 240-249.

Gigli I, Russo A, Aguero A. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camelidos sudamericanos. *InVet* 2006; 8 (1):183-204.

Ginther OJ. Intrauterine movement of the early conceptus in barren and postpartum mares. *Theriogenology* 1984; 21: 633-644.

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

Ginther OJ. Embryonic loss in mares: Nature of loss after experimental induction by ovariectomy or prostaglandin F (2 alpha). *Theriogenology* 1985b; 24(1): 87-98.

Ginther OJ. Reproductive Biology of the mare. Wisconsin : Cross Plains, 1992: 291-456.

Ginther OJ. Equine pregnancy: Physical interactions between the uterus and conceptus. American Association of equine practitioners. Proc 1998; 44: 73-104.

Ginther OJ, Gastal EL, Gastal MO, Beg MA. Regulation of circulating gonadotropins by the negative effects of ovarian. Biol Reprod 2005; 73: 315-323.

Haneda S, Nagaoka K, Nambod Y, Kikuchi M, Nakanoc Y, Matsui M, Miyake Y, Macleod JN, Imakawa K. Interleukin-1 receptor antagonist expression in the equine endometrium during the peri-implantation period. Dom Anim Endocrinol 2009; 36:209–218.

Heap RB, Hamon MH, Allen WR. Oestrogen production by the preimplantation donkey conceptus compared with that of the horse and effect of between-species embryo transfer. J Reprod Fertil 1991; 93: 141-147.

Hinrichs K, Sertich PL, Kenne RM. Use of altrenogest to prepare ovariectomized mares as embryo transfer recipients. Theriogenology 1986; 26 (4).

Hogdson D, Howe S, Jeffcott L, Reid S, Mellor D, Higgins A. Effect of prolonged use of altrenogest on behaviour in mares. Vet J 2005; 169: 113-115.

Holtan DW, Nett TM, Estergreen VL. Plasma progestins in pregnant, postpartum and cycling mares. J Anim Sci 1975; 40:2.

Holtan DW, Squires EL, Lapin DR, Ginther OJ. Effect of ovariectomy on pregnancy in mares. J Reprod Fert Suppl 1979; 27: 457-463.

Irvine CH, Sutton P, Turner JE, Mennick PE. Changes in plasma progesterone concentrations from days 17 to 42 of gestation in mares maintaining or losing pregnancy. Equine Vet J 1990; 22 (2): 104-106.

James AN, Vogelsang MM, Forrest DW, Stott GG. Efficacy of short term administration of altrenogest to postpone ovulation in mares. *J Equine Vet Sci* 1997; 18: 329-331.

Knowles JE, Squires EL, Shindeler RK, Tarr SF, Nett TM. Relationship of progesterone to early pregnancy loss in mares. *J Equine vet Sci* 1993; 13 (9): 528-533.

Lee MS. Efficacy of oral altrenogest for postponing ovulation in the mare (tesis de maestría) Texas (USA): 2003.

Legardinier S, Cahoreau C, Klett C, Combarous Y. Involvement of equine chorionic gonadotropin (eCG) carbohydrate side chains in its bioactivity; lessons from recombinant hormone expressed in insects cells. *Reprod Nut Dev* 2005a; 45: 255-259.

Legardinier S, Klett D, Poirier JC, Combarous Y, Cahoreau C. Mammalian- like non-sialyl complex-type N-glycosilation of equine gonadotrophins in Mimic™ insects cells. *Glycobiology* 2005b; 15: 776-790.

Lofstedt RM, Patel JH. Evaluation of the ability of altrenogest to control the equine estrous cycle. *J Amer Vet Med Assoc* 1989; 194: 361-364.

Luliano M, Squires E. Effect of exogenous progesterone on pregnancy rates after surgical embryo transfer in mares. *Theriogenology* 1986; 26 (3): 291-298.

Machnik M, Hegger I, Kietzmann M, Thevis M, Guddat S, Scha-Nzer W. Pharmacokinetics of altrenogest in horse. *J Vet Phar Therap* 2007; 30, 86-90.

Manzella SM, Dharmesh SM, Beranek MC, Swanson P, Baenzinger JU. Evolutionary conservation of the sulfated oligosaccharides on vertebrate glycoprotein hormones that control circulatory half-life. *J Biol Chem* 1995; 270:21665-21671.

Martinuck SD, Rajkumar K, Murphy BD. Effects of carbohydrates on the pharmacokinetics and biological activity of equine chorionic gonadotrophin in vivo. *Biol Reprod* 1991; 45: 598-604.

McCue PM, Kitren C, Nickerson MS, Squires EL, Farquhar VJ, Nett TM. Effect of Altrenogest on luteinizing hormone concentrations in mares during the transition period. Proceedings 2007; 47.

McCue PM, Farquhar VJ, Squires EL. Effect of the GnRH agonist deslorelin acetate on pituitary function and follicular development in the mare. Amer Assoc Equine Pract 2000. In press.

McCue RM. Ovaries pathological of diagnostic. In: Recent Advances in Equine Reproduction. Colorado State University, Fort Collins, CO. International Veterinary Information Service (IVISO). 2000.

McKinnon AO, Squires EL, Pickett BW. Follicular dynamic preceding and during ovulation. In: Equine reproductive ultrasonography. Anim Reprod Lab 1988; 4: 41-49.

McKinnon AO, Carnevale EM. Ultrasonography. In: McKinnon, O.A. and Voss, J.L. (eds). Lea and Febiger. Philadelphia: Equine Reprod, 1993: 211-220.

McKinnon AO, Lescun TB, Walker JH, Vasey JR, Allen WR. The inability of some synthetic progestagens to maintain pregnancy in the mare. Equine Vet J 2000; 32 (1): 83-85.

Miller KF, Berg SL, Sharp DC, Ginther OJ. Concentrations of circulating gonadotrophins during various reproductive states in mares. Biol Reprod 1981; 22: 744-750.

Mitchell D: Early fetal death and a serum gonadotrophin test for pregnancy in the mare. Can Vet J 1971; 12 (2).

Murphy BD, Martinuk D. Equine chorionic gonadotropin. Endocr Rev 1991; 12: 27-44.

Neely DP. Progesterone/progestin therapy in the broodmare. Assoc Equine Pract 1988: 203-218.

Patrick TC, Mayhew IG, Merritt MA, Moore NJ. Medicina y Cirugía Equina. 4ª ed. Argentina: Intermedica, 1998.

Pearson A. El futuro de los équidos de trabajo prospectivas y problemas. Memorias del Tercer Coloquio Internacional de Équidos de Trabajo. México, 1998.

Pulido A, Zarco L, Galina CS, Murcia C, Flores G, Posadas E. Progesterone metabolism during storage of blood samples from gyr cattle: Effects of anticoagulant, time and temperatura of incubation. Theriogenology 1991; 35:965-975.

Romaswamy. Technology and management of working animal systems for increasing. Their productivity and walfare with special focus on donkeys. Coloquio Internacional de Équidos de Trabajo. México, 1998.

Roser JF. Equine chorionic gonadotropin. In: Knobil E, Neill JD. Encyclopedia of Reproduction. New York: Acad Press 1999; 2: 29-37.

Ruder K. Out of Africa: The Origin of Donkeys, Genome News by topic Evolution Horses Network, 2004.

Saint-Dizier M, Dupont J, Daels PF, Combarous Y. Expression and binding activity of luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptors in the primary corpus luteum during early pregnancy in the mare. Biol Reprod 2003; 69: 1743-1749.

Saint-Dizier M, Foulon-Gauze F, Lecompte F, Combarous Y, Chopineaus M. Cloning and fuctional expression of the equine luteinizing hormone/chorionic gonadotrophin receptor. J Endocr 2004; 183: 551-559.

Sharp DC. Maternal recognition of pregnancy. In: Mckinnon AO, Voss JL. Lea and Fabiger. Philadelphia: Equine Reprod 1993: 487-493.

Sherman GB, Wolfe MW, Farmerie TA, Clay CM, Threadgill DS, Sharp DC, Nilson JH. A single gene encodes the beta-subunits of equine luteinizing hormone and chorionic gonadotropin. *Mol Endocr* 1992; 6:951-959.

Smith JD. Drugs in equine reproduction: what you need to know and more? USA: Nor Am Vet Conf, 2007: 199-201.

Smith PL, Bousfield GR, Kumar S, Fiete D, Beazinger JU. Equine lutropin and chorionic gonadotropin bear oligosaccharides terminatin with SO<sub>4</sub>-4-GalNAc and Sia $\alpha$  2,3 Gal, repectively. *J Biol Chem* 1993; 268:795-802.

Spincemaille J, Bouters R, Vandeplassche M, Bonte P. Some aspects of endometrial cup formation and PMSG production. *J Reprod Fert Suppl* 1975; 23:415.

Squires EL, García MC, Ginther OJ. Effects of pregnancy and hysterectomy on the ovaries of pony mares. *J Anim Sci* 1974a; 38: 823-830.

Squires EL, Wenworth BC, Ginther OJ. Progesterone concentration in blood of mares during the oestrus cycle, pregnancy and after hysterectomy. *J Anim Sci* 1974b; 39: 759-767.

Squires EL, Douglas RH, Steffenhagen WP, Ginther OJ. Ovarian changes during of ovarian and uterine venous blood in mares. *J Anim Sci* 1974c; 38: 330-338.

Squires EL, Ginther OJ. Collection thecnique and progesterone concentrations of ovarian and uterine venous blood in mares. *J Anim Sci* 1975a; 40: 275-281.

Squires EL, Ginther OJ. Follicular and luteal development in pregnant mares. *J Reprod Fert Suppl* 1975b; 23: 429-433.

Squires EL, Stevens WB, McGlothlin DE, Pickett BW. Effect of oral progestin on the estrous cycle and fertility of mares. *J Anim Sci* 1979; 49 (3).

Squires EL. Progestin. In: Mckinnon AO, Voss JL. Lea and Fabiger. Philadelphia: Equine Reprod, 1993a: 311-318.

Squires EL. Use of progestins in open and pregnant mares. Reprod Anim Sci 1993b; 33: 183-193.

Squires EL. Endocrinology of pregnancy. In: Mckinnon AO, Voss JL. Lea and Fabiger. Philadelphia: Equine Reprod, 1993c: 495-500.

Squires EL. Hormonal manipulation of the mare: A Review. J Equine Vet Sci 2008; 28 (11).

Starbuck GR, Stout TAE, Lamming, et al. Endometrial oxytocin receptor and uterine prostaglandin secretion in mares during the estrous cycle and early pregnancy. J Reprod Fert 1998;113: 173-179.

Stewart F, Allen WR, Moor RM. Pregnant mare serum gonadotrophin: ratio of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone activities measure by radioreceptor assay. J Endocr 1976; 71: 371.

Stewart F, Allen WR. The binding of FSH, LH and PMSG to equine gonadal tissues. J Reprod Fert 1979; 27: 431.

Stewart F, Allen WR. Biological functions of receptor-binding activities of equine chorionic gonadotrophins. J Reprod Fert 1981; 62: 527-536.

Stewart F, Lennard SN, Allen WR. Mechanisms controlling formation of the equine chorionic girdle. Biol Reprod Monograph Series I, 1995; 54: 303-311.

Thompson -Jr DL, Reville SI, Derrick DJ.: Short-term mode of secretion of equine chorionic gonadotropin and the effect of GnRH. Theriogenology 1982; 18:583-591.

Tovío LN, Duica A, Grajales H. Desarrollo embrionario y estrategias antiluteolíticas hormonales en programas de trasplante en embriones bovinos. Rev.MVZ Cordoba. 2008; 13 (1).

Vanderwall DK, Woods GL, Weber JA, Lichtewalner AB. Uterine transport of prostaglandin E2-releasing simulated embryonic vesicles in mares. Theriogenology 1993; 40:13-20.

Vanderwall DK, Woods GL, Weber JA, Lichtewalner AB. Uterine transport of prostaglandin E2-releasing simulated embryonic vesicles in mares. Theriogenology 1993; 40:13-20.

Vanderwall DK. Early embryonic loss in the mare. J Equine Vet Sci 2008; 28 (11).

Voller A, Bartlett A, Bidwell DE. Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. J Clin Pathol 1978; 31: 507-520.

Voller BE, Parry-Weeks LC, Holtan DW. The effect of Regu-mate, a synthetic progestin, on early pregnancy maintenance, conceptus growth, and corpora lutea development in pregnant pony mares. J Equine Vet Sci 1991; 11 (1): 46-50.

Watson ED. Do mares possess an intracellular endometrial inhibitor of prostaglandin synthesis during early pregnancy?. Theriogenology 1991; 36 (1):67-71.

Webb R, Woad KJ, Armstrong DG. Corpus Luteum (CL) function: local control mechanisms. Dom Anim Endocr 2002; 23: 277-285.

Wiepz GJ, Squires EL, Champ PL. Effects of norgestomet, altrenogest and/or estradiol on follicular and hormonal characteristics of late transitional mares. Theriogenology 1988; 30: 181.

Zarco L, Boeta AM. Reproducción Equina, 2a. ed. Universidad Nacional Autónoma de México, 2000.

Zavy T. Embryonic mortality in domestic species. CRC Press, USA, 1994.