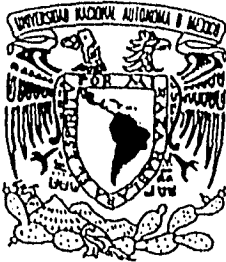


01669



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

2
209

ESTUDIO SOBRE MORTALIDAD EMBRIONARIA POR
REGRESION PREMATURA DE LAS COPAS ENDOMETRIALES EN
YEGUAS UTILIZADAS PARA LA PRODUCCION DE MULAS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL

P R E S E N T A :

ANA MYRIAM BOETA ACOSTA

ASESOR: LUIS ALBERTO ZARCO QUINTERO

MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

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

A MI FAMILIA

A TI MAMI QUE SIEMPRE ME HAS APOYADO EN TODOS LOS SENTIDOS QUIERO DEDICARTE UNA VEZ MAS OTRO EXITO QUE HE CONSEGUIDO EN MI VIDA GRACIAS A TI. TE QUIERO MUCHO.

A TI ROSE Y KARLITA LAS QUIERO MUCHO Y ME DA GUSTO QUE ESTEMOS JUNTAS EN OTRO PELDAÑO MAS EN MI VIDA.

A TI MAMI MARIA. ERES SUPER LINDA, ABUE TE QUIERO MUCHO Y TE AGRADEZCO POR TODO LO QUE HAS COMPARTIDO CON NOSOTRAS.

A LUIS ZARCO ESTA INVESTIGACION REPRESENTA DOS AÑOS Y CACHITO DE ARDUO ESFUERZO. AHORA AL FINAL DE ESTE TRABAJO SURGEN NUEVOS CAMINOS A SEGUIR. ESPERO SEGUIR CONTANDO CON TU VALIOSO APOYO Y SEGUIR OBTENIENDO GRANDES RESULTADOS JUNTOS. GRACIAS.

DEDICATORIA ESPECIAL

A

LALO CON CARIÑO

Lalo te agradezco todo lo que hiciste por mi ya que por ti obtuve todo lo necesario para empezar, continuar y terminar el trabajo en Veracruz. También te doy las gracias ya que me aguantaste todos esos meses donde a veces me enojaba solo a veces eh! Recuerdas que quedamos que anotaríamos todas nuestras aventuras pues bien, durante la realización del trabajo de campo en Veracruz sucedió.....

Cuando supuestamente había semen de caballos de la Domecq, cuando empezó a llover y se mojó el ultrasonido, te acuerdas ese día nos mojamos, grite. llore y después me calme cuando vi que si seguía funcionando el aparato. Hablando de lloviznas y huracanes me tocaron bastantes siempre había agua durante mis visitas a este estado, de tal manera que tuve que realizar ultrasonidos bajo la lluvia. Cuando fuimos con Felix y Sonia a la playa y yo tomando el sol con un Norte. Cuando de repente ya no tenía yeguas para trabajar. Los problemas que tuvimos con el Burrito Kentucky true, cuando no quería trabajar y solo por una patadita de la percherona. Cuando no funcionaba el diluyente y usamos nuestra salvación San Marcos Light, cuando teníamos que revisar a las yeguas y no había llave donde estaba la luz eléctrica. La yegua informal del Dr. Yuyo. El ca...hijo del Loco que a la mera hora se llevo a las yeguas inseminadas y nunca más regreso para las evaluaciones. La yegua y sus gemelitos. Las cenas con Tía Tere, las comidas con Felix y Sonia, los palitos rellenos, el intercambio de información amorosa con tu primo en Playa azul, la laguna de Catemaco con sus brujos y tegogolos, la linda luna reflejada en la laguna y por muchos recuerdos más....

GRACIAS

**GRACIAS A MI QUERIDA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO**

**A LA CUAL LE DEBO MI FORMACION
PROFESIONAL, ACADEMICA Y HUMANISTICA.
PARA MI ES UN ORGULLO HABER SIDO
ESTUDIANTE DE LA MAXIMA CASA DE ESTUDIOS
DE MEXICO Y AHORA FORMAR PARTE DE ELLA.**

**A La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
División de Estudios de Posgrado e Investigación por su apoyo
económico al desarrollo de mi Investigación.**

**A La Dirección General de Personal Académico por
becarme en la última fase de mi investigación.**

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por
otorgarme la Beca durante el periodo que realice mis estudios de
Maestría.**

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

**A MAMI HELIA
ROSE
KARLITA
Y MAMI MARIA**

a ROBERTO GOMEZ S. Te agradezco todas tus atenciones y tus muestras de cariño que has tenido con nosotras en todos estos años.

LUIS ZARCO. Te acuerdas cuando empezamos a realizar la primera parte de la investigación en la Policía Montada e íbamos a los corrales por las yeguas, y nos pegaban unos sustos las desdichadas y sin embargo nunca me dijiste mejor tu ve por ellas y yo te espero, bueno como esos detalles y miles más que tengo en mi mente siempre te lo agradeceré.

ANGEL MONREAL. Angelito eres el primer eslabón en la cadena de éxitos que comenze en Veracruz. Gracias.

EDUARDO SILVA SUAREZ....

Gracias a mi jurado: Dr. Luis Zarco, Dr. Javier Valencia Méndez, Dr. Joel Hernández, Dra. María Masri Daba y Dra. Monica Alemán.

Especialmente a la Dra. María Masri Daba por su apoyo brindado durante mi vida profesional y por representar el modelo de Mujer Profesionista a seguir.

**GRACIAS AL DEPARTAMENTO DE REPRODUCCION
DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**Es un orgullo pertenecer al Departamento de Reproducción
donde lo integra un grupo de personas trabajadoras, entusiastas y
dispuestas a trabajar.**

**Gracias al jefe del Depto. Luis Zarco, por todas las facilidades prestadas
durante toda la Investigación.**

Gracias Pancho Quintero por acompañarme a trabajar a Veracruz.

**Gracias a Susana Ramírez por su colaboración en la medición hormonal
de las muestras.**

**Gracias a
Mariana Bernal
Octavio Mejia
Alberto Balcazar**

**GRACIAS A LA POLICIA MONTADA DEL DDF
por facilitarme sus instalaciones y sus animales, Gracias a todos los
Médicos Veterinarios que me brindaron su ayuda desinteresada.**

**GRACIAS A TODOS MIS AMIGOS POR BRINDARME SU AMISTAD
Y SU CARIÑO ESPECIALMENTE.....**

**Gilberto Rosas, Gonzalo Villar, Miguel Uribe, Carlos de Luna, Elisa
Jacinto, Miriam Salazar**

**AL BELLO, ALEGRE E INIGUALABLE
VERACRUZ**

Gracias al Licenciado **Miguel Turrent Cano** por facilitarme sus yeguas y su Burro Kentucky

Gracias a **Tere Lima Suarez y a su familia** por abrirme las puertas de su hogar a si como brindarme esa gran hospitalidad la cual me hacia sentir como en mi casa.

Gracias a **Clarence Lindo Simonin** por ayudarme incondicionalmente, brindarme todo su apoyo y recibirme en su casa.

Gracias al Dr. **Juan Raúl González Centurión** por colaborar con nosotros en Santiago Tuxtla, Ver.

Gracias a **Felix y a Sonia** por su gran hospitalidad y su amistad la cual es muy valiosa para mi.

Gracias también a **Marcelino Gracia** ya que por el conocí a la gente que me brindo realmente su ayuda.

C O N T E N I D O

| | PAGINA |
|--|-----------|
| RESUMEN | |
| I. INTRODUCCION | 1 |
| II. REVISION DE LA LITERATURA | 4 |
| 2.1 <i>Evaluación ultrasonográfica de la gestación equina</i> | 4 |
| 2.2 <i>Mortalidad embrionaria</i> | 7 |
| 2.2.1 <i>Mortalidad embrionaria antes del diagnóstico de gestación</i> | 7 |
| 2.2.3 <i>Mortalidad embrionaria después del diagnóstico de gestación</i> | 8 |
| 2.3 <i>Gonadotropina coriónica equina y Gonadotropina coriónica de burra</i> | 9 |
| 2.3.1 <i>Funciones de la gonadotropina coriónica equina</i> | 12 |
| III. MATERIAL Y METODOS | 14 |
| IV. RESULTADOS | 17 |
| 4.1 <i>Pérdidas embrionarias en yeguas gestantes con embrión equino</i> | 21 |
| 4.2 <i>Pérdidas de gestación en yeguas con embrión mula</i> | 30 |
| V. DISCUSION | 39 |
| VI. CONCLUSIONES | 47 |
| VIII. LITERATURA CITADA | 48 |

BOETA ACOSTA ANA MYRIAM. Estudio sobre mortalidad embrionaria por regresión prematura de las copas endometriales en yeguas utilizadas para la producción de mulas. Bajo la dirección de PhD. Luis Zarco Q.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue comparar la incidencia de mortalidad embrionaria y aborto en yeguas servidas con caballo y yeguas servidas con burro. Además, mediante el seguimiento ultrasonográfico y hormonal (eCG y progesterona) se trató de determinar las posibles causas de la muerte del producto, evaluando especialmente el papel de la regresión prematura de las copas endometriales. En la primera parte del estudio se utilizaron 28 yeguas servidas con caballo y diagnosticadas como gestantes mediante ultrasonografía entre el día 20 y 30 de la gestación. Se realizaron exámenes ultrasonográficos semanales hasta el día 150 de la gestación. En cada ocasión se midió la vesícula embrionaria y se determinó la viabilidad fetal (presencia de latido cardíaco, movimiento fetal y/o pulsación del cordón umbilical del producto). En caso de no encontrar ninguna evidencia de que el feto estuviera vivo se anotó la fecha y los hallazgos. Además, a partir de los 30 días de gestación se obtuvieron una vez a la semana muestras sanguíneas para la determinación de progesterona y eCG con el objeto de evaluar respectivamente la función de los cuerpos lúteos y de las copas endometriales. En la segunda parte del experimento se utilizaron 19 yeguas inseminadas con semen de burro y diagnosticadas como gestantes entre el día 18 y 25 de la gestación. Se realizó el mismo seguimiento ultrasonográfico y hormonal descrito para las yeguas servidas con caballo. Tanto los niveles de progesterona como los de eCG fueron significativamente menores en las yeguas servidas con burro comparadas con las servidas con caballo ($p < 0.05$). Además, las concentraciones de eCG regresaron a niveles basales mucho antes (semana 12) en yeguas servidas con burro que en yeguas servidas con caballo (semana 18). Las bajas concentraciones de eCG presentes en las yeguas servidas con burro no estimularon la función lútea, por lo que las concentraciones de progesterona circulante no mostraron el incremento asociado con la elevación de eCG que ocurrió a partir de la sexta semana de gestación en las yeguas con embrión equino. Se comparó el número de muertes embrionarias (antes del día 40) y abortos (después del día 40 de gestación) ocurridas en los 2 grupos en diferentes etapas de la gestación. En el primer grupo, de las 28 yeguas servidas con caballo, se produjeron 6 pérdidas de la gestación. Dos de ellas se debieron a deficiencia lútea primaria, una por deficiencia lútea secundaria (debida a insuficiente producción de eCG), dos casos se debieron a luteolisis primaria, y el último caso se debió a una gestación gemelar. En el caso de yeguas servidas con burro, se presentaron cuatro abortos por luteolisis primaria y 3 por muerte fetal primaria. En el presente estudio no se encontraron casos de mortalidad embrionaria directamente atribuibles a regresión prematura de las copas endometriales en yeguas servidas con burro.

ESTUDIO SOBRE MORTALIDAD EMBRIONARIA POR REGRESION PREMATURA DE LAS COPAS ENDOMETRIALES EN YEGUAS UTILIZADAS PARA LA PRODUCCION DE MULAS.

I. INTRODUCCION

En México las mulas son una fuente importante de trabajo productivo en actividades como la agricultura, ganadería, transporte y minería. Debido a que la mula es un híbrido infértil, su producción requiere el cruzamiento entre Equus caballus (caballo doméstico) y Equus asinus (burro doméstico) (Allen et al. 1993a). En la práctica este cruzamiento inter-especie se realiza mucho más frecuentemente entre yeguas y burros que entre caballos y burras. Aunque existen pocos datos al respecto, parece ser que la cruce usual de yegua con burro resulta en una fertilidad relativamente baja.

Los niveles de fertilidad en la producción de mulas son más bajos comparados con la cruce normal de caballo con yegua, lo que al parecer no se debe solamente a bajos porcentajes de concepción, sino también a un aumento en la incidencia de abortos y mortinatos. En Brasil, Jordão et al. (1954) encontró que 259 yeguas nativas cruzadas con burros brasileños e italianos tuvieron un porcentaje de concepción del 36.9%, y el 5.4% de estas gestaciones terminaron en abortos o en el nacimiento de un producto muerto. En contraste, la fertilidad de yeguas servidas con caballos en la misma época del año y en la misma localización geográfica fue 49.3%. Beltran (1950) informó de un porcentaje de concepción del 54.6% en yeguas servidas con caballos, mientras que yeguas servidas con burro fue del 45.1%. Sin embargo, ambos estudios fueron realizados antes de que se desarrollara la tecnología de ultrasonido. por lo que era imposible determinar si las muertes eran debidas a la baja fertilidad o fallas en la concepción o a mortalidad embrionaria.

En algunos criaderos mexicanos, menos del 40% de las yeguas utilizadas para la producción de mulas paren una cría cada año, a pesar de mantenerse continuamente con los burros sementales (M.V.Z. Rubén Vázquez Rocha, Criadero Militar de Ganado No. 2, Santa Gertrudiz, Chihuahua,

comunicación personal). Esta baja eficiencia reproductiva puede ser una de las causas de que el inventario nacional de mulas se haya reducido de una población de 3 millones de animales en 1980, a 1.5 millones en 1990 (Dirección General de Estadística, Subsecretaría de Planeación, Secretaría de Agricultura y Recursos Hídricos), a pesar de que las mulas continúan jugando un importante papel en actividades como la agricultura, transporte y minería, que las convierten en animales altamente cotizados y demandados en el medio rural.

Una posible causa de la baja fertilidad de yeguas servidas con burro es el rechazo prematuro que el sistema inmune de la yegua dirige en contra de las copas endometriales formadas a partir de células coriónicas del embrión mula (Allen, 1982; Allen et al, 1993a,1993b). Se ha informado que en yeguas gestantes con un feto de caballo, así como en burras gestantes con embriones de progenitor caballo, las concentraciones de eCG son elevadas (80-200 UI/ml), mientras que en yeguas gestantes con embriones mula las concentraciones máximas de eCG son mucho más bajas (5-40 UI/ml) (Allen, 1982). Además, generalmente las concentraciones de gonadotropina coriónica equina (eCG) en la circulación de una yegua gestante con embrión mula disminuyen varias semanas antes de lo que normalmente ocurre en yeguas cuyo producto es de caballo (Allen 1984).

La falta de soporte gonadotrópico provocado por una insuficiente producción de eCG o un cese prematuro en la producción de esta hormona podría resultar en la regresión prematura de los cuerpos lúteos, con el consiguiente descenso en las concentraciones de progesterona, lo que podría resultar en la pérdida de la gestación.

Aunque se han hecho estudios muy detallados sobre los mecanismos inmunes que causan la regresión prematura de las copas endometriales en yeguas con embrión mula (Allen, 1984), dichos estudios se han realizado en un número muy pequeño de animales, por lo que no se conoce cuál es la incidencia de este fenómeno. Por lo tanto tampoco se sabe si la regresión prematura de las copas endometriales es una causa importante de mortalidad embrionaria que repercute negativamente en la eficiencia reproductiva de las yeguas dedicadas a la producción de mulas. Antes de pensar en el desarrollo de tratamientos para prevenir la muerte embrionaria por

regresión prematura de las copas endometriales es necesario conocer la importancia real del problema, y en que etapas de la gestación se presenta. El objetivo del presente trabajo es comparar la incidencia de mortalidad embrionaria debida a regresión prematura de las copas endometriales en yeguas servidas con burro y en yeguas servidas con caballo. Para ello, se comparó la incidencia de regresión prematura de las copas endometriales en yeguas servidas con burro y en yeguas servidas con caballo, mediante determinaciones seriadas de eCG. Además se realizaron determinaciones seriadas de progesterona plasmática para evaluar si la regresión prematura de las copas endometriales está asociada a una pérdida prematura de la función lútea. Asimismo, se realizaron evaluaciones ultrasonográficas semanales para establecer si la regresión prematura de las copas endometriales resulta en muerte embrionaria. Finalmente, se comparó la incidencia de muerte embrionaria debida a regresión prematura de las copas endometriales en yeguas servidas con burro y yeguas servidas con caballo y se intentó establecer otras posibles causas de muerte embrionaria o fetal.

II. REVISION DE LA LITERATURA

2.1 Evaluación ultrasonográfica de la gestación equina

En la yegua la ultrasonografía de tiempo real no solamente permite diagnosticar la gestación en etapas muy tempranas, sino que conociendo las características morfológicas del embrión se puede determinar la edad de la gestación con un margen de error muy pequeño (Ginther, 1986). También es posible identificar cambios en el aspecto de la vesícula embrionaria muy poco tiempo después de que se produzca la muerte del embrión. Debido a esto, la ultrasonografía es un instrumento muy útil para realizar el seguimiento de la gestación en estudios sobre mortalidad embrionaria.

La vesícula embrionaria puede ser identificada con un transductor lineal de 5 mHz desde el día 9 ó 10 de la gestación. En ésta etapa el embrión equino mide alrededor de 10 mm de diámetro, y se mueve constantemente dentro del lumen uterino (Ginther, 1985), llegando a recorrer ambos cuernos uterinos en toda su longitud 10 o 20 veces al día (Ginther, 1984).

El útero de la yegua no gestante secreta prostaglandina $F2\alpha$ 14 o 15 días después de la ovulación, lo que provoca la regresión del cuerpo lúteo (Daels et al, 1989; Daels y Hughes, 1993). Para evitar que ésto ocurra, en la yegua gestante el embrión produce una señal antiluteolítica entre el día 14 y el día 16 postovulación que bloquea la secreción de prostaglandina $F2\alpha$ (Hershman y Douglas, 1979).

La movilidad del embrión resulta indispensable para que ocurra el reconocimiento de la gestación, ya que de esta manera las sustancias antiluteolíticas producidas por el embrión hacen contacto con toda la superficie uterina, bloqueando la síntesis de $PGF2\alpha$ en todo el endometrio (Allen y Cooper, 1993). Una vez que se ha logrado el reconocimiento materno de la gestación, la movilidad del embrión deja de ser necesaria, por lo que alrededor del día 16 de la gestación el embrión es inmovilizado, lo que se logra tanto por un aumento del tono uterino como por el mayor tamaño del embrión (Ginther, 1983). La vesícula embrionaria en esta época tiene una forma esférica casi perfecta, notándose en sus dos polos áreas ultrasonográficamente ecogénicas,

llamadas reflejos especulares. La vesícula embrionaria generalmente se localiza cerca de la bifurcación uterina, en cualquiera de los cuernos del útero (Ginther, 1992). A partir de ese momento el sitio de fijación se dilata debido al crecimiento del trofoblasto, por lo que desde el día 18 o 19 de la gestación es posible localizar el saco gestacional por medio de palpación rectal (Ginther, 1992). En ésta etapa la vesícula frecuentemente adquiere una forma triangular, y poco a poco va alargándose hasta llegar a ocupar casi todo el cuerno gestante alrededor del día 50 de gestación (Ginther, 1992).

Entre los días 20 y 25 la vesícula puede observarse con forma irregular a esférica, y es posible observar al embrión dentro de la vesícula, generalmente en posición ventral (Ginther, 1986). Desde el día 22 o 23 es posible detectar el latido cardíaco, el cual debe verificarse siempre para asegurarse que el embrión esté vivo. A partir del día 21 comienza a crecer el alantoides, localizándose ventralmente al embrión, mientras que el saco vitelino, localizado dorsalmente al embrión, va reduciendo su tamaño (Ginther, 1992). Por ésta razón, entre el día 25 y 33 de la gestación se puede observar una línea ecogénica (blanca) que separa horizontalmente a la vesícula embrionaria (Ginther, 1985). Esta línea está formada por las membranas que separan el saco alantoideo del saco vitelino, y el embrión se observa en la parte media de dicha separación. Inicialmente (día 25), la línea se encuentra cerca del polo ventral de la vesícula embrionaria, subiendo gradualmente para llegar al polo superior en el día 38 donde el alantoides ha crecido y el saco vitelino es muy pequeño, por lo que el embrión casi ha llegado al polo dorsal (Ginther, 1986). (Figura 2.1)

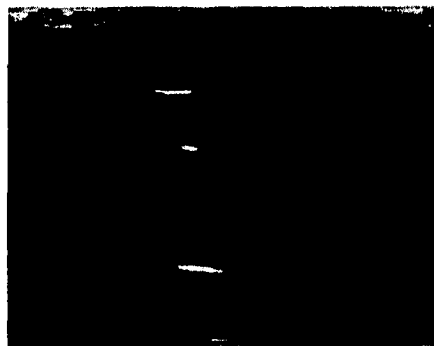


Figura 2.1. Vesícula embrionaria de una gestación de 36 días.

En el día 39 de la gestación el alantoides llega a ponerse en contacto con el córion en el polo superior de la vesícula, quedando el saco vitelino como un vestigio. Debido a esto ya no se detecta una separación en la vesícula embrionaria (Ginther, 1985).

El cordón umbilical se une al polo dorsal del córion, y comienza a alargarse a partir del día 40, por lo que el embrión, que se encuentra en decúbito dorsal, va cayendo hacia la parte inferior de la vesícula, manteniéndose suspendido del polo dorsal por el cordón umbilical, el cual se observa como una línea ecogénica vertical (Figura 2.2).



Figura 2.2. Embrión de 45 días de edad.

En el día 50 el embrión ya se encuentra totalmente formado, pudiéndose identificar con relativa claridad sus diferentes partes. En una gestación de 55 días la posición del feto es en decúbito dorsal, y se puede distinguir las extremidades y cabeza (Figura 2.3).



Figura 2.3. Feto de 55 días de edad.

En etapas más avanzadas, tanto el feto como la vesícula son demasiado grandes para poderse observar completos con un transductor de 5 Mhz. Sin embargo, es posible observar porciones del cordón umbilical y del feto mismo. En éstos casos se debe verificar que el feto esté vivo mediante la observación de latido cardíaco, pulsaciones del cordón umbilical, o movimientos fetales (Ginther, 1986).

2.2 Mortalidad embrionaria

Debido a que la ultrasonografía solamente permite detectar la presencia de la vesícula embrionaria a partir del día 9 ó 10 de la gestación, resulta prácticamente imposible determinar la ocurrencia de mortalidad embrionaria antes de esta edad (Ginther, 1986). Sin embargo, se conoce que en yeguas normales servidas en el momento apropiado la fertilización se produce en más del 90% de los casos (Flood, 1993), por lo que la diferencia entre esta cifra y el porcentaje de yeguas que aún se encuentran gestantes al realizar el diagnóstico de gestación constituye una estimación adecuada de mortalidad embrionaria.

De esta manera, las pérdidas embrionarias pueden clasificarse en 2 periodos de acuerdo al momento de su ocurrencia:

- Antes de detectar gestación (10-14 días)
- Después de confirmada la gestación por ultrasonido y/o palpación rectal (14-40 días)

2.2.1 Mortalidad embrionaria antes del diagnóstico de gestación

Como ya se mencionó, el diagnóstico de mortalidad embrionaria antes del día 10 de gestación es muy difícil. Sin embargo, la colección de embriones ha permitido conocer la incidencia de muerte embrionaria durante los primeros 6 días de gestación. Se ha visto que en yeguas subfértiles la colección de embriones es menos exitosa debido que un porcentaje de los embriones han muerto antes del lavado (Ball, 1988). Además, la probabilidad de gestación al transferir a receptoras normales los embriones que se logran recuperar a partir de yeguas subfértiles es baja, lo que indica que muchos de ellos han sufrido daño antes del día de la colección (Ball, 1987). Con este tipo de estudios se ha concluido que en yeguas fértiles la incidencia de mortalidad embrionaria entre la fertilización y el día 14 es del 9%, mientras que en

yeguas subfértiles puede ser de hasta un 75% (Ball, 1986). Antes del día 14 la mortalidad embrionaria puede deberse a defectos intrínsecos del embrión (poliespermia, fallas en la segmentación, aberraciones cromosómicas, genes letales) (Ball,1993), a factores externos que afectan directamente al embrión (medio ambiente uterino inadecuado, agentes patógenos) (Ball, 1993), o a factores que provoquen la secreción de prostaglandina $F2\alpha$, lo que resulta en regresión prematura del cuerpo lúteo (irritación endometrial, endotoxemia, septicemia) (Daels et al, 1987;1989;1991).

2.2.3 Mortalidad embrionaria después del diagnóstico de gestación

La incidencia de mortalidad embrionaria después de que se ha confirmado la gestación por ultrasonido es mas fácil de determinar. En Australia la incidencia calculada entre el diagnóstico y el quinto mes de gestación es del 13.5%, ocurriendo el 75% de estos casos antes del día 75 de la gestación (Ginther, 1985).

Entre el día 14 y 18 de la gestación la causa más común de mortalidad embrionaria es la falla en el reconocimiento materno de la gestación, lo que puede deberse a asincronía materno-embriónica (desarrollo lento del embrión, secreción prematura de $PGF2\alpha$ uterina), así como a alteraciones en la movilidad embrionaria (adherencias, quistes endometriales, etc.) (Ginther, 1992;Ball, 1993).

Después del reconocimiento de la gestación, y con fines del presente trabajo, las causas de mortalidad se pueden dividir en dos grandes grupos: 1.- Factores que lesionan directamente al embrión, por lo que la mortalidad embrionaria es seguida por la destrucción del cuerpo lúteo (mortalidad embrionaria primaria) (Ball, 1993), y 2.- Factores que provocan una deficiente función lútea o regresión prematura del cuerpo lúteo (Daels et al,1989), por lo que la falta de soporte progestacional resulta posteriormente en mortalidad embrionaria (mortalidad embrionaria secundaria).

En este último grupo puede incluirse la regresión prematura de las copas endometriales, la cual en caso de producirse resultaría en la regresión de los cuerpos lúteos por falta de soporte gonadotrópico (Allen, 1973). La caída en las concentraciones de progesterona finalmente

resultaría en la muerte del embrión por alteraciones en el medio ambiente uterino. Debido a que este tipo de alteraciones son el objeto del presente estudio, a continuación se describirá con más detalle el establecimiento, función y regresión de las copas endometriales.

2.3 *Gonadotropina Coriónica Equina y Gonadotropina Coriónica de Burra*

Alrededor del día 25 de la gestación, cuando el embrión tiene aún una forma casi esférica, comienza a formarse en el trofoblasto una banda de tejido especializado llamado cinturón coriónico, que rodea al trofoblasto a lo largo de la línea que se forma en el sitio de contacto entre el alantoides y el saco vitelino (Allen et al, 1973). En el día 33 el cinturón coriónico está formado por pliegues que aumentan en número y se alargan dentro de las vellosidades uterinas. El espacio que se forma entre las vellosidades se llena de material extracelular que sirve como superficie de adherencia entre las superficies coriónica y uterina. En esta etapa la unión firme entre la vesícula embrionaria y el endometrio involucra solamente al cinturón coriónico. Las células binucleadas que forman este cinturón son de naturaleza invasiva, y para el día 36 o 37 se han separado del corión, penetrando en el epitelio uterino para establecerse en el estroma endometrial (Allen et al, 1973).

En el día 38, una vez establecidas en el endometrio, las células coriónicas continúan invadiendo, secuestrando y engolfando a las células epiteliales. La invasión cesa después de la infiltración del estroma endometrial, pero las células coriónicas proliferan hasta formar estructuras microscópicas llamadas copas endometriales, las cuales producen una hormona llamada actualmente gonadotropina coriónica equina (eCG) (Murphy y Martinuk, 1991). Esta hormona anteriormente se conocía como gonadotropina sérica de yegua gestante (PMSG) (Allen y Stewart, 1993).

La eCG es una hormona glicoprotéica formada por dos subunidades, α , y β , que se encuentran unidas en forma no covalente (Papkoff, 1974). Aunque al administrarse a otras especies la eCG tiene actividad tanto de hormona luteinizante (LH) como de hormona folículo estimulante (FSH), en realidad la secuencia de aminoácidos de la subunidad β de la eCG (Sugino et al, 1987) es idéntica a la de la subunidad β de la LH equina (Bousfield et al, 1987), lo que

explica el porque en la yegua la eCG actúa exclusivamente como una hormona luteinizante y no como una hormona folículo estimulante. Una particularidad de la eCG que la distingue de las gonadotropinas de otras especies es su alto contenido de carbohidratos, ya que el 20% de su cadena alfa y el 50% de su cadena β están constituidas por oligosacáridos (Allen y Stewart, 1993). Además, el contenido de ácido siálico en la eCG es mayor al de cualquier otra gonadotropina (Christakos y Bahl, 1979).

La secuencia de aminoácidos de la subunidad β de la gonadotropina coriónica de burra (dCG) es diferente a la de la subunidad β de la eCG (Allen y Stewart, 1993). Al administrarse a otras especies la dCG tiene mas actividad de LH y menos actividad de FSH que la eCG (Stewart et al, 1977). La gonadotropina coriónica que se produce cuando el producto es un híbrido de yegua y burro tiene una actividad biológica intermedia entre la hCG y la dCG (Stewart et al ,1977).

La eCG se detecta por primera vez en la yegua alrededor del día 37 de la gestación, elevándose continuamente hasta alcanzar un pico entre el día 60 y 80 (Allen y Stewart, 1993). En una gestación intraespecie (caballo con yegua), las concentraciones de eCG en la circulación comienzan a descender después del día 80 de la gestación, para desaparecer completamente entre el día 120 y el día 160 de la gestación (Allen y Stewart, 1993). Esto es debido a que se produce un rechazo inmunológico de las copas endometriales. Un aspecto interesante es que cuando se produce la muerte del embrión después de la formación de las copas endometriales, éstas continúan funcionando autónomamente hasta el día en que normalmente regresarían, por lo que las concentraciones de eCG permanecen elevadas a pesar de ya no existir el embrión (Lofstedt, 1986). La única excepción es cuando la causa de la pérdida del embrión sea precisamente la destrucción prematura de las copas endometriales, en cuyo caso la caída en las concentraciones de eCG precede a la muerte embrionaria.

El desarrollo del cinturón coriónico y las copas endometriales, así como el perfil de secreción de eCG dependen de la interacción entre los genotipos paterno y materno. En gestaciones en las que el padre es caballo y la madre yegua, el cinturón coriónico se desarrolla adecuadamente, y hacia el día 35 las células coriónicas ya han invadido el endometrio materno y secretan gran

cantidad de gonadotropina coriónica equina (Allen y Kydd, 1987). Cuando la gestación es debida al cruzamiento entre caballo y burra los eventos son similares a los descritos anteriormente (Heap y Hamon, 1991). Pero cuando el producto es un híbrido de yegua con burro (mula), se produce solamente un 10 o 15% de la eCG que se produciría en una gestación de yegua con caballo, lo cual se debe a que las copas endometriales en una yegua con gestación híbrida son más pequeñas y el cinturón coriónico es más estrecho que en la gestación intraespecie (Allen, 1982). Además, en la gestación híbrida la eCG desaparece de la circulación en forma muy prematura, entre el día 70 y 80 de la gestación (Allen, 1984).

La influencia del genotipo fetal en el desarrollo de las copas endometriales también se ha demostrado en gestaciones extraespecíficas realizadas por transferencia de embriones. Por ejemplo, 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 corión del embrión burro fallan en su misión de invadir el endometrio materno en el día 36 a 38, por lo que se forman copas endometriales pequeñas y poco activas. Esto es seguido por una implantación inadecuada, y generalmente se produce el aborto antes del día 100 de la gestación (Allen y Skidmore, 1993).

De esta manera, el útero equino aparentemente 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 en 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 extraespecies.

Tanto en el caso de gestación de yegua con caballo como en el caso de gestaciones híbridas, la reducción y eventual desaparición de la eCG circulante se debe a un rechazo inmunológico de las copas endometriales (Allen 1984). Dicha reacción comienza poco tiempo después de formarse las copas, y consiste en una acumulación progresiva de linfocitos T, que es seguida por infiltración de linfocitos B, macrófagos, eosinófilos y células plasmáticas en el tejido endometrial que rodea

cada copa (Kydd et al, 1991), produciéndose una reacción inmune celular acompañada de la aparición de anticuerpos citotóxicos dirigidos en contra de los antígenos paternos tipo 1 del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de las células de las copas endometriales (Allen y Kidd et al, 1991). Dicho complejo es producido por el trofoblasto equino. En el caso de gestación entre yegua y caballo los leucocitos comienzan a invadir la copa endometrial y a destruir sus células a partir del día 80 de la gestación, mientras que en las gestaciones híbridas los leucocitos de la yegua comienzan a atacar las copas endometriales desde el día 50 de la gestación (Allen, 1984), por lo que para el día 60 o 70 han sido completamente destruidas.

2.3.1 Funciones de la gonadotropina coriónica equina

A diferencia de la mayoría de las especies, en la yegua la progesterona no ejerce retroalimentación negativa sobre la secreción de FSH, por lo que aún durante la fase lútea y durante la gestación se produce secreción de FSH y desarrollo folicular en los ovarios (Evans e Irvine, 1975). Aunque durante los primeros 35 días de gestación se produce desarrollo folicular, dichos folículos no llegan a ovular debido a la ausencia de LH en concentraciones adecuadas para provocar la ovulación, por lo que se produce su atresia, seguida por formación de nuevos folículos. Los nuevos folículos que se desarrollan después del día 35 encuentran un ambiente endocrino en el que ya hay eCG circulante (Allen y Stewart, 1993), y como en el equino ésta hormona actúa como LH, provoca el desarrollo final de los folículos, lo que se detecta como una marcada elevación en las concentraciones de estradiol circulante (Terqui y Palmer, 1979). Finalmente, la eCG estimula la ovulación y/o luteinización de uno o varios folículos, los cuales forman cuerpos lúteos accesorios, por lo que se produce una elevación en las concentraciones de progesterona (Allen y Stewart, 1993). Durante los siguientes 80 o 100 días se producen varios episodios de desarrollo folicular y formación de estructuras lúteas, por lo que los ovarios cada vez contienen mas cuerpos lúteos, ya que tanto el cuerpo lúteo original como todos los que se forman posteriormente se mantienen en el ovario estimulados por la acción luteotrópica de la eCG (Allen y Stewart, 1993).

En una gestación normal en la yegua, los cuerpos lúteos dejan de funcionar entre el día 120 y el 150 de la gestación debido a que la destrucción de las copas endometriales resulta en la desaparición de la eCG circulante, por lo que deja de haber un soporte gonadotrópico (Squires, 1993). Sin embargo, la gestación se mantiene porque la placenta es capaz de producir cantidades suficientes de progesterona a partir del día 120 de la gestación (Holtan et al, 1979). En el caso de las yeguas servidas con burro la destrucción de las copas endometriales y la caída en las concentraciones de eCG ocurren antes del día 100 (Allen et al, 1993 a; 1993b), por lo que es posible que un cierto número de gestaciones se pierdan debido a que la placenta aún no tiene la capacidad de producir suficiente progesterona para mantener la gestación, al producirse la regresión prematura de las copas endometriales y de los cuerpos lúteos.

En una gestación normal en la yegua, los cuerpos lúteos dejan de funcionar entre el día 120 y el 150 de la gestación debido a que la destrucción de las copas endometriales resulta en la desaparición de la eCG circulante, por lo que deja de haber un soporte gonadotrópico (Squires, 1993). Sin embargo, la gestación se mantiene porque la placenta es capaz de producir cantidades suficientes de progesterona a partir del día 120 de la gestación (Holtan et al, 1979). En el caso de las yeguas servidas con burro la destrucción de las copas endometriales y la caída en las concentraciones de eCG ocurren antes del día 100 (Allen et al, 1993 a; 1993b), por lo que es posible que un cierto número de gestaciones se pierdan debido a que la placenta aún no tiene la capacidad de producir suficiente progesterona para mantener la gestación, al producirse la regresión prematura de las copas endometriales y de los cuerpos lúteos.

III. MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el Distrito Federal y en el Estado de Veracruz. La primera parte se llevó a cabo de marzo de 1994 a febrero de 1995 en las instalaciones del Agrupamiento a Caballo de la policía montada del DDF, ubicadas en Iztapalapa, Distrito Federal. Se utilizaron 28 yeguas, las cuales fueron previamente servidas con caballo y diagnosticadas como gestantes mediante ultrasonido entre 15 y 25 días después del servicio. Este grupo se utilizó para determinar los patrones normales de secreción de eCG y progesterona durante los primeros 5 meses de gestación intraespecie, y para determinar la relación entre dichos patrones y la viabilidad embrionaria determinada ultrasonográficamente. Para ello, a partir de los 30 días de gestación se obtuvieron una vez a la semana muestras sanguíneas de cada yegua mediante punción de la vena yugular, utilizando tubos al vacío conteniendo EDTA como anticoagulante. Las muestras de sangre se centrifugaron dentro de la primera hora posterior a su obtención a 3000 r.p.m. durante 10 minutos para separar el plasma, el cual se mantuvo en congelación a -80 C hasta el momento de realizar las determinaciones hormonales. En las muestras se determinaron las concentraciones de progesterona y eCG para evaluar la funcionalidad de los cuerpos lúteos y de las copas endometriales respectivamente.

En cada yegua se realizaron exámenes ultrasonográficos semanales en las que se evaluó la viabilidad fetal y se midió la vesícula embrionaria. Se utilizó un equipo de ultrasonido con transductor lineal de 5 Mhz hasta el día 60 de la gestación, y de 3.5 Mhz a partir de los 60 días de gestación hasta los 150 días. En cada examinación se determinó la viabilidad fetal mediante la presencia de latido cardíaco, movimiento fetal y/o pulsación del cordón umbilical del producto (Ginther, 1986, 1992). En caso de no encontrar ninguna evidencia de que el feto estuviera vivo se registraban las características de lo observado.

La segunda parte del experimento se efectuó entre abril de 1995 y noviembre del mismo año en San Andrés Tuxtla, Veracruz. Se utilizaron 19 yeguas como grupo experimental. Las yeguas fueron tratadas con 5 mg de PGF_{2α} natural para sincronizar el estro (Douglas y Ginther, 1972). Una vez en estro se revisaron ultrasonográficamente para que fueran inseminadas lo más cercano

etapas de la gestación (Prueba exacta de Fisher), diferenciando entre muertes asociadas a regresión prematura de copas las endometriales y muerte por otras causas. Para ello se consideró que la muerte del producto se debió a regresión prematura de las copas endometriales si se produjo una caída en las concentraciones de eCG circulante asociada a una disminución en las concentraciones de progesterona, disminuyendo ambas hormonas a niveles basales antes de registrarse la muerte del producto, o simultáneamente con ella. En caso de que la secreción de eCG continuará después de detectarse la muerte del producto se consideró que ésta se produjo por causas diferentes a la falla de producción de eCG (Lofstedt,1986). También se consideró que la causa de muerte del producto no fue la falta de eCG si las concentraciones de esta hormona bajaron pero el cuerpo lúteo continuó secretando progesterona en forma normal. Se consideró que la causa de la muerte del producto fue una deficiencia lútea primaria si las concentraciones de progesterona fueron significativamente más bajas de lo normal, sin haber una deficiente producción de eCG (Ball, 1993). Se consideró que la causa de la muerte fue un estímulo luteolítico si las concentraciones de progesterona disminuyeron abruptamente hasta niveles basales inmediatamente antes de la muerte o expulsión del producto (Daels et al, 1989), sin ser precedidas por una caída en las concentraciones de eCG. Finalmente, se consideraron como muertes embrionarias primarias aquellas en las que se registró la muerte del embrión antes de detectarse alguna alteración en las concentraciones hormonales (Ball, 1993). Las muertes del producto se clasificaron en muerte embrionaria, cuando se produjo antes del día 39 de la gestación, y aborto, cuando se produjo después del día 40 de gestación (Ginther, 1992; Ball, 1993).

IV- RESULTADOS

En el cuadro 1 se observa que la incidencia total de pérdidas de gestación fue mayor en las yeguas con embrión mula (36,8%) que en las gestantes con embrión de caballo (21,4%). Además, en el caso de embriones mula todas las muertes ocurrieron después del día 40, mientras que en las yeguas gestantes con embrión equino la mitad de los casos fueron de mortalidad embrionaria y la otra mitad de abortos.

Cuadro 1. Incidencia de mortalidad embrionaria (antes del día 40 de gestación) y abortos (después del día 40) en yeguas gestantes con embrión equino y con embrión mula.

| | Embrión equino n=28 | Embrión mula n=19 |
|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| Mortalidad embrionaria | 3 (10,7 %) | 0 (0%) |
| Abortos | 3 (10,7 %) | 7 (36,8 %) |
| Total | 6 (21,4 %) | 7 (36,8 %) |

En las Figuras 4.1 y 4.2 se presentan los promedios en los valores de progesterona y eCG durante los primeros 18 semanas de la gestación en las yeguas servidas con caballo y yeguas servidas con burro que no perdieron la gestación.

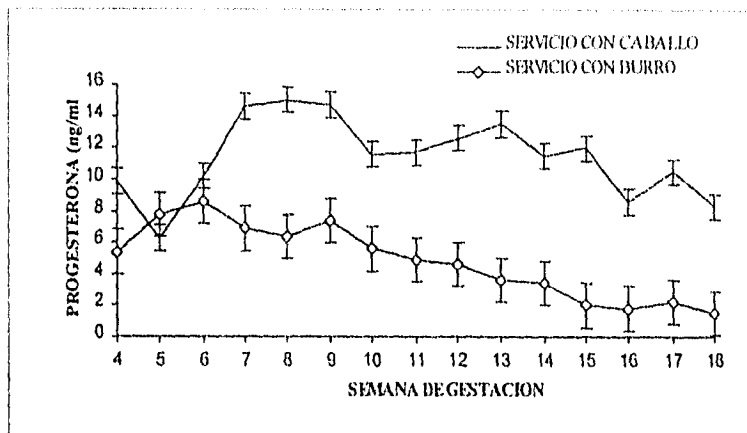


Figura 4.1 Concentraciones de progesterona (media \pm e.e.) en las semanas 4 a 18 de la gestación normal en yeguas servidas con caballo y yeguas servidas con burro. Las concentraciones de progesterona fueron significativamente ($p < 0.05$) más elevadas en yeguas servidas con caballo que en yeguas servidas con burro a partir de la semana 7 de la gestación.

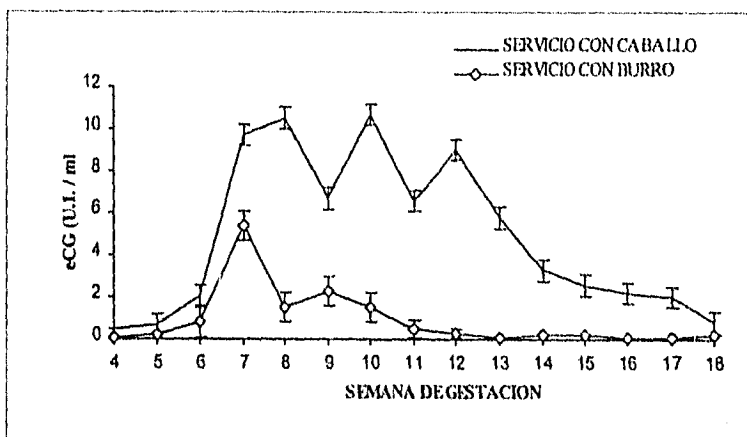


Figura 4.2 Concentraciones de eCG (media \pm e.e.) en las semanas 4 a 18 de la gestación normal en yeguas servidas con caballo y yeguas servidas con burro. Las concentraciones de eCG fueron significativamente ($p < 0.05$) más elevadas en yeguas servidas con caballo que en yeguas servidas con burro a partir de la semana 7 de la gestación.

Las concentraciones de ambas hormonas fueron significativamente más elevadas en yeguas servidas con caballo que en yeguas servidas con burro a partir de la semana 7 de gestación. Además, en el caso de la eCG en yeguas con embrión mula las concentraciones regresaron a niveles basales en la semana 11 ó 12 de gestación, mientras que en las yeguas servidas con

caballo esto ocurrió hasta la semana 18. Posiblemente como resultado de la caída en los niveles de eCG, en las yeguas servidas con burro las concentraciones de progesterona descienden gradual pero continuamente desde la semana 9 hasta la 16, mientras que en yeguas servidas con caballo se mantienen estables hasta la semana 15.

En las Figuras 4.3 y 4.4 se muestran respectivamente el crecimiento de la vesícula embrionaria en yeguas con embrión de caballo y con embrión mula. En cada gráfica se muestra una línea de regresión que representa el desarrollo de la vesícula en aquellas yeguas con gestación normal. De acuerdo a dichas ecuaciones, las vesículas de embriones de caballo crecieron a una velocidad de 1.27 mm por día, mientras que las de mulas crecieron a una velocidad de 1.41 mm por día. La diferencia en la velocidad de crecimiento de ambos tipos de embrión no fue significativa ($p > 0.05$). Los coeficientes de correlación fueron muy elevados (0.85 para embriones equinos y 0.90 para embriones mula), lo que indica que en embriones normales la velocidad de crecimiento es poco variable entre individuos. En las figuras también se observa que en la mayoría de los casos de pérdida de la gestación no se produce una desviación importante en la velocidad de desarrollo del embrión antes de producirse la muerte. Sin embargo, existen algunos casos (p.ej. yeguas 229 y 476) en las que la vesícula embrionaria reduce significativamente su ritmo de crecimiento antes de morir el embrión.

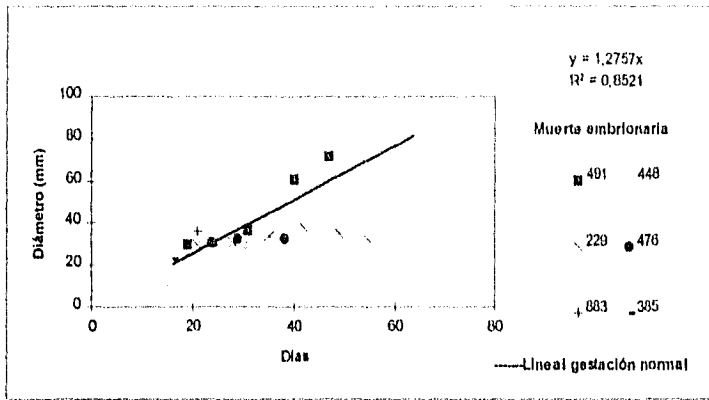


Figura 4.3 Crecimiento de las vesículas embrionarias en yeguas con embrión equino. La línea representa la ecuación de regresión del crecimiento de las vesículas en las yeguas que nunca perdieron la gestación, mientras que los distintos símbolos representan el tamaño de las vesículas en cada una de las yeguas que perdieron al embrión.

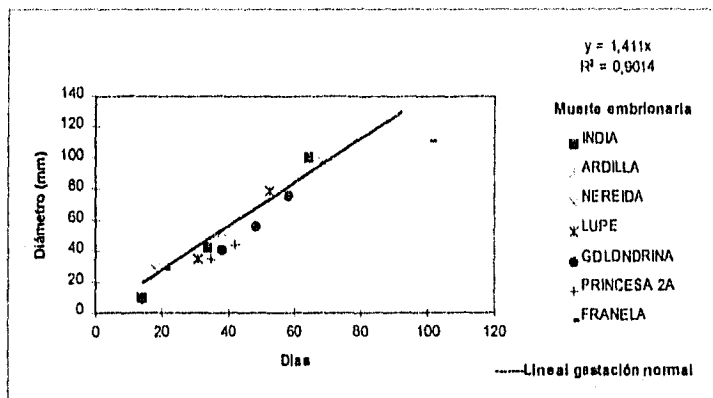


Figura 4.4 Crecimiento de las vesículas embrionarias en yeguas con embrión mula. La línea representa la ecuación de regresión del crecimiento de las vesículas en las yeguas que nunca perdieron la gestación, mientras que los distintos símbolos representan el tamaño de la vesícula de cada una de las yeguas que perdieron la gestación.

A continuación se describirá el caso de cada una de las yeguas que sufrieron pérdidas de gestación. En cada caso se presentan las concentraciones hormonales y desarrollo de la vesícula en la yegua afectada, comparándolas contra los valores promedio obtenidos en las gestaciones normales del mismo tipo de yeguas (con embrión equino o mula). Además, en los casos en los que alguna yegua tuvo una gestación normal después de sufrir mortalidad embrionaria se presentan los datos de las dos gestaciones con fines comparativos.

4.1 Pérdidas embrionarias en yeguas gestantes con embrión equino

En la yegua 476 (Figura 4.5) se detectó reabsorción embrionaria al realizar el examen ultrasonográfico en la cuarta semana, ya que en ese momento no fue posible localizar el embrión a pesar de que el diámetro de la vesícula embrionaria aun era normal. Las concentraciones de progesterona se encontraron relativamente bajas desde el primer muestreo (día 29), indicando una posible falla en la función lútea. Las concentraciones de eCG no llegaron a elevarse debido a que la muerte embrionaria se produjo antes de la formación de las copas endometriales.

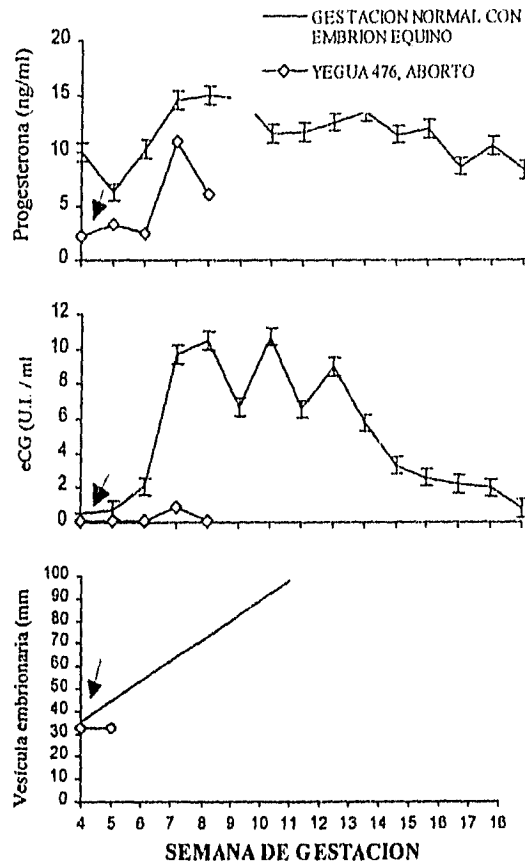


Figura 4.5. Concentraciones de progesterona y eCG, y diámetro de la vesícula embrionaria en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión equino que sufrió mortalidad embrionaria por aparente deficiencia lútea primaria. Las flechas indican el momento en que se registró la mortalidad embrionaria.

En la misma temporada reproductiva la yegua 476 volvió a quedar gestante (Figura 4.6). En esta ocasión la gestación se llevó a cabo normalmente a pesar de que las concentraciones de progesterona y eCG siempre estuvieron por debajo del promedio, indicando que esta yegua tiene predisposición a una deficiente función lútea. Sin embargo, los niveles de progesterona en la cuarta semana fueron casi del doble en la gestación en la que no perdió el embrión comparada con la gestación previa, en la que el embrión murió en la cuarta semana.

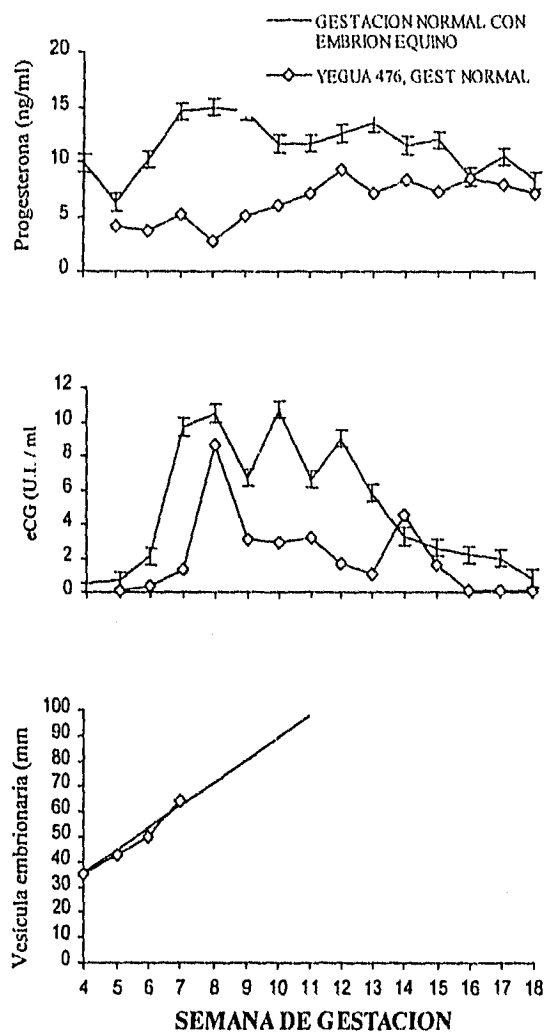


Figura 4.6 Concentraciones de progesterona y eCG, y diámetro de la vesícula embrionaria en diferentes semanas durante una gestación normal de la yegua 476.

En la yegua 448 (Figura 4.7) desde el día 24 la vesícula se observó irregular al realizar ultrasonografía y desde ese momento se redujo su tamaño, y ya para el día 38 (semana 6) no fue posible localizar la vesícula. Los niveles de progesterona al momento de la muerte embrionaria (semana 4) eran más bajos de lo normal, y posteriormente se elevaron y volvieron a bajar aparentando un ciclo estral. Esto indicaría que el cuerpo lúteo de la gestación sufrió regresión, produciéndose una falla en el reconocimiento de la gestación. La eCG no se secretó debido a que el embrión murió antes de que se formaran las copas endometriales.

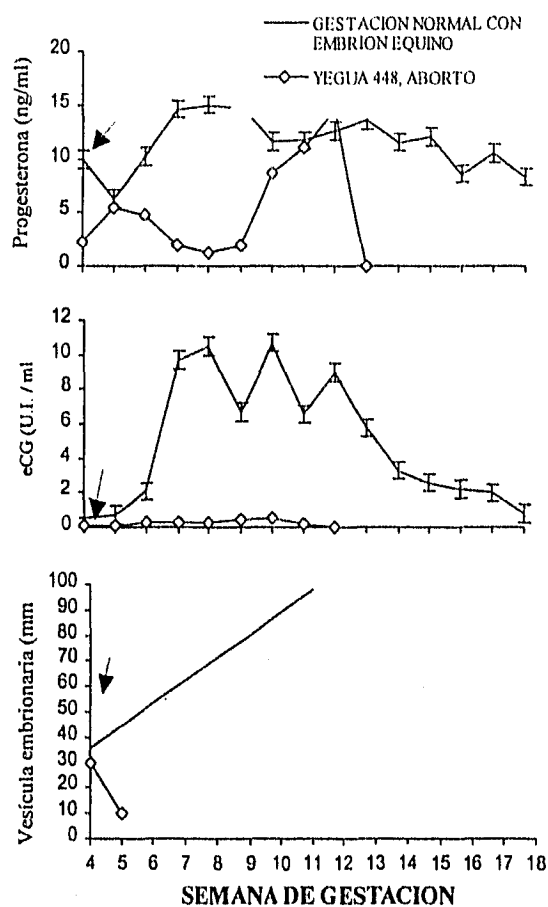


Figura 4.7. Concentraciones de progesterona y eCG, y diámetro de la vesícula embrionaria en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión equino que sufrió mortalidad embrionaria por regresión prematura del cuerpo lúteo debida a algún estímulo luteolítico. Las flechas indican el momento en que se registró la mortalidad embrionaria.

En la misma temporada reproductiva la yegua 448 (Figura 4.8) volvió a quedar gestante, manteniendo la gestación hasta el final. Los niveles de progesterona y eCG entre la 7a y 9a semana se mantuvieron por arriba del promedio normal, así como también el crecimiento de la vesícula embrionaria fue más rápida de lo normal. Esto indica que esta yegua probablemente no tenga predisposición a sufrir desbalances endocrinos, y que la regresión del cuerpo lúteo ocurrida cuando perdió la gestación puede haber sido el resultado de algún agente exógeno que provocó la luteolisis.

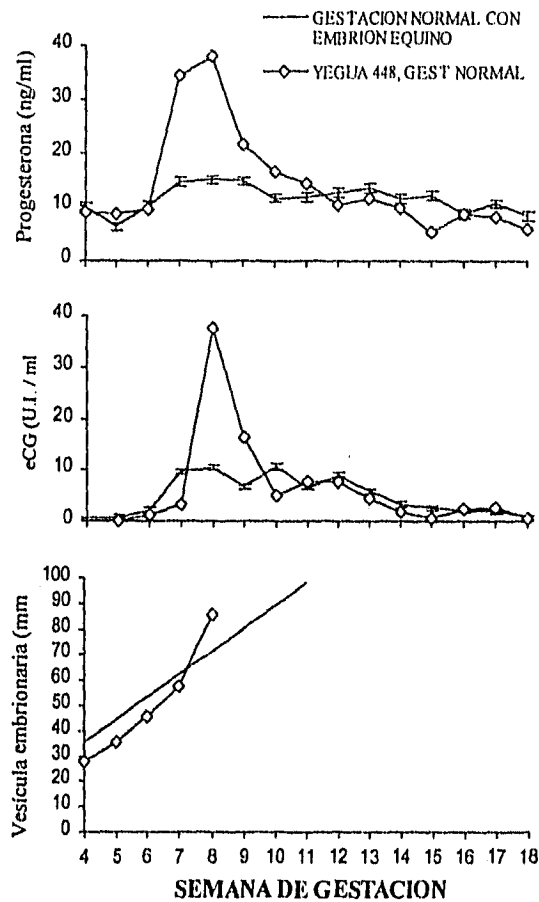


Figura 4.8 Concentraciones de progesterona y eCG, y diámetro de la vesícula embrionaria en diferentes semanas durante una gestación normal en la yegua 448.

En la yegua 491 (Figura 4.9) el crecimiento de la vesícula embrionaria hasta la semana 7 fue un poco más rápido que el de las yeguas que no perdieron la gestación, por lo que desde el día 42 hasta el 54 su diámetro fue mayor al promedio. En la semana octava, al realizar el examen ultrasonográfico se encontraron compartimentos dentro de la vesícula embrionaria, sin poderse localizar el feto. Las concentraciones de progesterona en este día eran tan solo de 1.74 ng/ml, y se habían mantenido bastante bajas desde el día que se inició el muestreo. La eCG tampoco se elevó en el momento adecuado, por lo que la causa de mortalidad pudo ser una insuficiencia lútea provocada por falta de apoyo gonadotrópico eCG. Una semana después de registrarse la mortalidad embrionaria las concentraciones de progesterona bajaron a 0.03ng/ml.

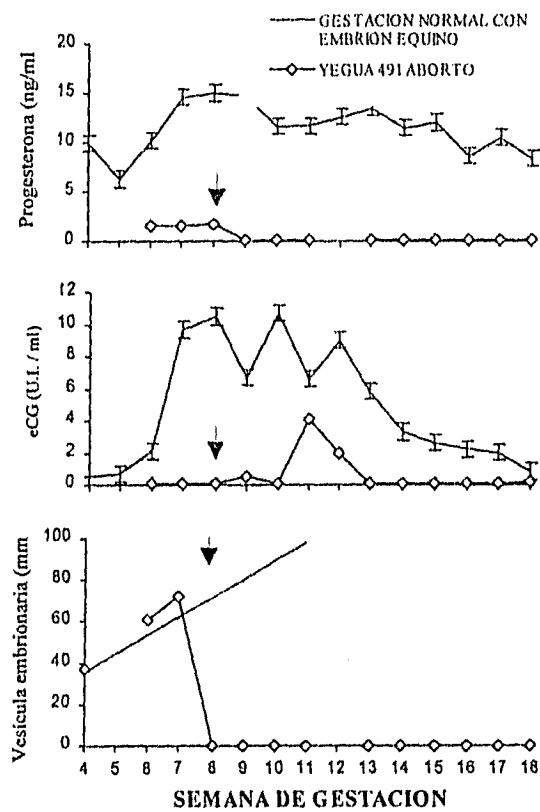


Figura 4.9. Concentraciones de progesterona y eCG, y diámetro de la vesícula embrionaria en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión equino por una deficiente función lútea aparentemente debida a falta de producción de eCG. Las flechas indican el momento en que se registró la mortalidad embrionaria

Después de abortar la yegua 491 (Figura 4.10) permaneció sin actividad ovárica por lo menos hasta el día 124 post-servicio (1 Julio). La yegua volvió a entrar en estro el 5 de agosto, quedando gestante y manteniendo la gestación hasta el final. En ésta ocasión, a pesar de mantener una gestación normal las concentraciones de eCG fueron muy bajas, al igual que las concentraciones de progesterona, que estuvieron por debajo del promedio, aunque no tanto como durante la gestación que se perdió anteriormente.

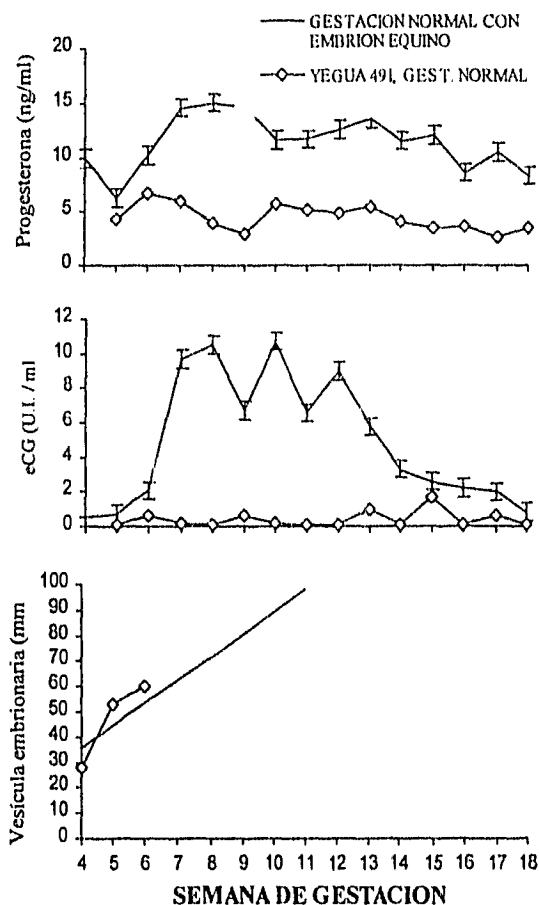


Figura 4.10. Concentraciones de progesterona y eCG, y diámetro de la vesícula embrionaria en diferentes semanas durante una gestación normal en la yegua 491.

La yegua 385 (Figura 4.11) expulsó al feto y las membranas fetales al momento de la palpación rectal y revisión ultrasonográfica de la semana 9. Los niveles de progesterona en ese día se encontraban en 0.2 ng/ml. Una semana antes, la progesterona se encontraba en niveles significativos (4.3 ng/ml) y el feto estaba vivo (latido cardíaco). La causa probable de mortalidad embrionaria en esta yegua fue la regresión lutea, la cual no se debió a falta de producción de eCG, ya que en el día que ocurrió el aborto la eCG se encontraba elevada (39.6 ng/ml), y una semana después bajo a 29.5 ng/ml, y continuó disminuyendo gradualmente hasta casi desaparecer de la circulación en el día 129 cuando la yegua presentó un nuevo calor. Esta yegua tenía un comportamiento muy nervioso durante la revisión ultrasonográfica, por lo que la examinación se suspendía inmediatamente después de localizar el latido cardíaco, sin realizarse la medición de la vesícula embrionaria.

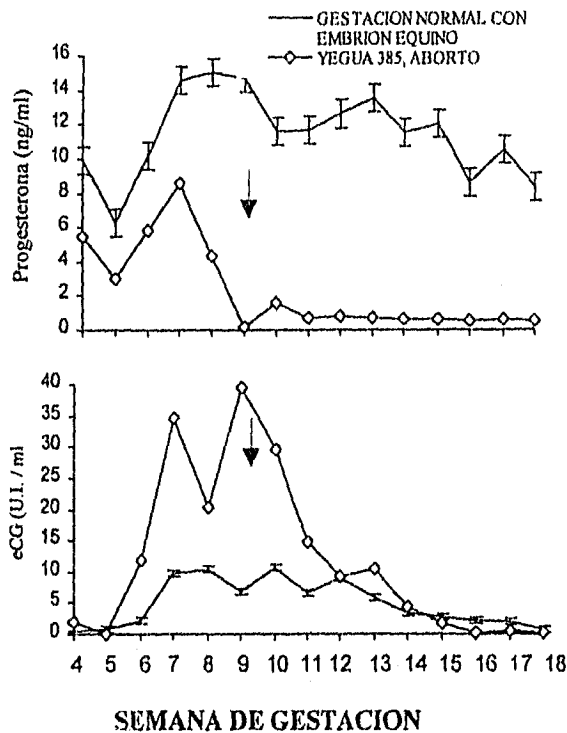


Figura 4.11. Concentraciones de progesterona y eCG en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión equino que sufrió aborto por luteolisis primaria. Las flechas indican el momento en que se registró la mortalidad embrionaria.

En la yegua 229 (Figura 4.12) el crecimiento de la vesícula embrionaria fue más rápido de lo normal, hasta llegar a medir 30 mm en el día 20 (no mostrado en la gráfica), sin embargo, a partir del día 30 su crecimiento fue más lento, hasta que en el día 42 se encontraron al examen ultrasonográfico cambios indicativos de muerte fetal (ausencia de feto, compartimentos intravesiculares). Los niveles de progesterona en este día se encontraban en 6.81 ng/ml, y a partir de ese momento se redujeron en forma muy gradual hasta llegar a niveles basales en la semana 12. La gonadotropina coriónica equina nunca llegó a secretarse debido a que la muerte del embrión ocurrió antes de formarse las copas endometriales. Debido a que no se encontraron alteraciones endocrinas previas a la muerte del feto se consideró como muerte fetal primaria.

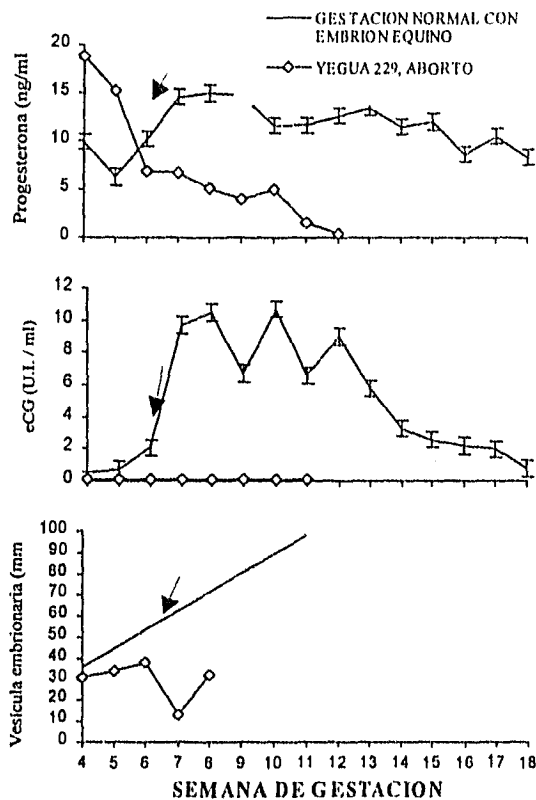


Figura 4.12. Concentraciones de progesterona y eCG, y diámetro de la vesícula embrionaria en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión equino que sufrió muerte fetal primaria aparentemente sin encontrar alteraciones endocrinas. Las flechas indican el momento en que se registró la muerte fetal.

La yegua 229 volvió a quedar gestante en la misma temporada reproductiva sin tener ningún problema para llevar la gestación hasta el final (Figura 4.13). Las concentraciones de progesterona estuvieron dentro del promedio, mientras que el crecimiento de la vesícula embrionaria fue mas lento que lo normal entre la cuarta y la sexta semana de la gestación, pero después aceleró su crecimiento hasta quedar en el promedio. Desgraciadamente las muestras de eCG correspondientes a las semanas 4 a la 9 fueron extraviadas. Sin embargo en las muestras restantes los niveles de eCG siempre fueron más altas de lo normal, lo que combinado con las concentraciones normales de progesterona sugiere que ésta yegua no tiene predisposición a sufrir alteraciones endocrinas.

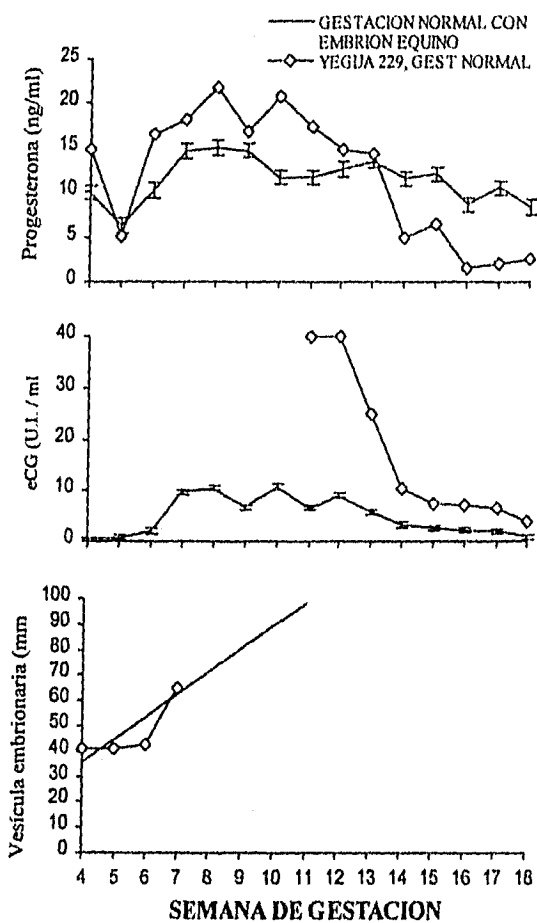


Figura 4.13. Concentraciones de progesterona y eCG, y diámetro de la vesícula embrionaria en diferentes semanas de una gestación normal en la yegua 229.

En la yegua 883 (Figura 4.14) el diámetro de la vesícula embrionaria en el día 21 fue mas grande al promedio, quizá porque se observaron gemelos y los niveles de progesterona en este día se encontraban elevados (13.17 ng/ml). Sin embargo a la siguiente semana (día 26) las vesículas embrionarias se habían reabsorbido, ya que no se encontró nada al realizar el ultrasonido, manteniéndose todavía altos los niveles de progesterona, los cuales disminuyeron paulatinamente hasta desaparecer de la circulación materna en el día 77. La muerte embrionaria ocurrió antes de formarse las copas endometriales y con altos niveles de progesterona, por lo que se consideró que la causa fue muerte embrionaria primaria debida a gestación gemelar.

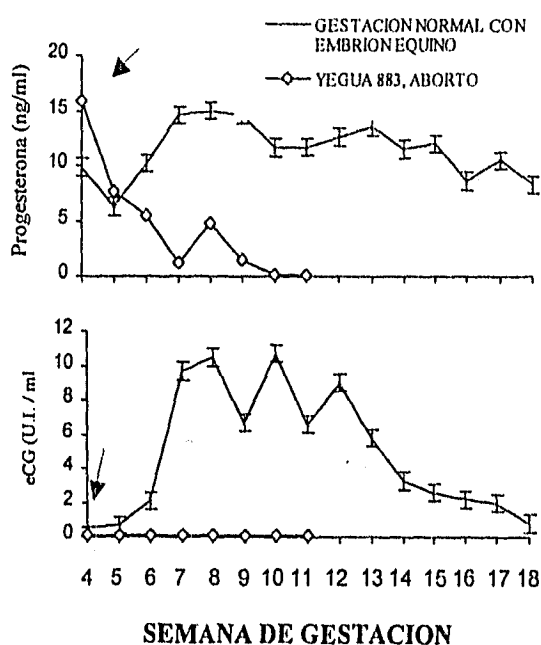


Figura 4.14. Concentraciones de progesterona y eCG en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión equino que sufrió mortalidad embrionaria por gestación gemelar. Las flechas indican el momento en que se registró la mortalidad embrionaria

4.2 Pérdidas de gestación en yeguas gestantes con embrión mula.

En el segundo grupo de las 19 yeguas montadas con burro se presentaron 7 abortos en diferentes días, ocurriendo en promedio en el día 93 de la gestación. En este grupo no se presentó ninguna muerte embrionaria antes del día 40 de la gestación.

En la yegua “Ardilla” (Figura 4.15) en la semana 8 todavía se encontró movimiento fetal. En el día 68 no se encontró la vesícula embrionaria al realizar la examinación ultrasonográfica, y el propietario informó que tres días antes se expulsaron membranas embrionarias por la vagina. Los niveles de progesterona en el día 68 se encontraban elevados (16.02 ng/ml), y continuaron así por varias semanas después de morir el feto, mientras que la gonadotropina coriónica equina tuvo un pico en su secreción en los días 38 al 49 y después disminuyó hasta desaparecer totalmente, así que para cuando ocurrió el aborto la eCG ya tenía varias semanas que había dejado de secretarse. A pesar de la desaparición de la eCG la progesterona continuó por encima de los 5ng/ml por lo menos hasta el día 79, por lo que la causa de muerte embrionaria no puede atribuirse a una falla lútea, debiendo clasificarse como muerte fetal primaria. Debido a problemas de comportamiento en esta yegua no fue posible realizar mediciones de la vesícula embrionaria.

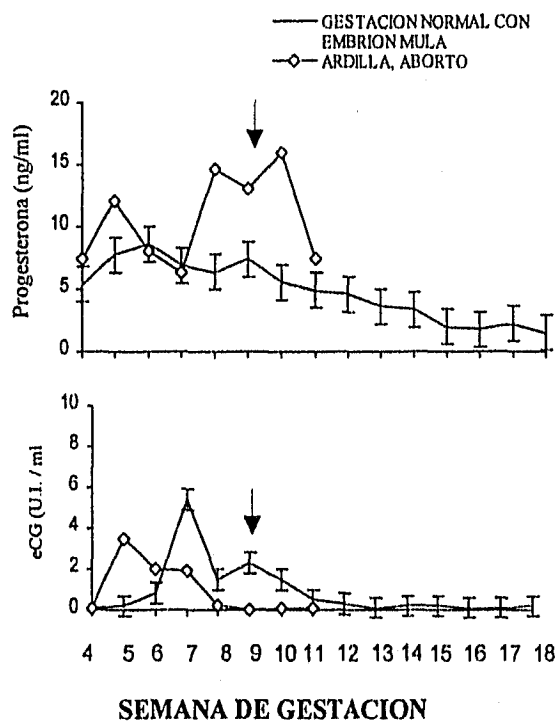


Figura 4.15. Concentraciones de progesterona y eCG en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión mula que sufrió muerte fetal primaria. Las flechas indican el momento en que se registró la muerte fetal.

En la yegua “Lupe” (Figura 4.16) el tamaño de la vesícula en el día 26 de la gestación (semana 4) era mas pequeño con respecto al promedio, sin embargo el crecimiento se aceleró y para la semana 7 el tamaño era mayor al promedio. El aborto ocurrió en el día 82 de la gestación, cuando a la evaluación ultrasonográfica no se encontró latido cardíaco. Los niveles de progesterona se encontraban relativamente bajos desde la semana 7, siendo en el día 71 de 4.21 ng/ml y en el día 82 de 2,72 ng/ml. Aunque la eCG casi no se elevó, cuando el feto murió las concentraciones de progesterona indicaban la presencia de un cuerpo lúteo funcional, por lo que la causa de muerte fetal posiblemente no se debió a una falla lútea por falta de apoyo de la eCG, en este caso se consideraría como muerte fetal primaria.

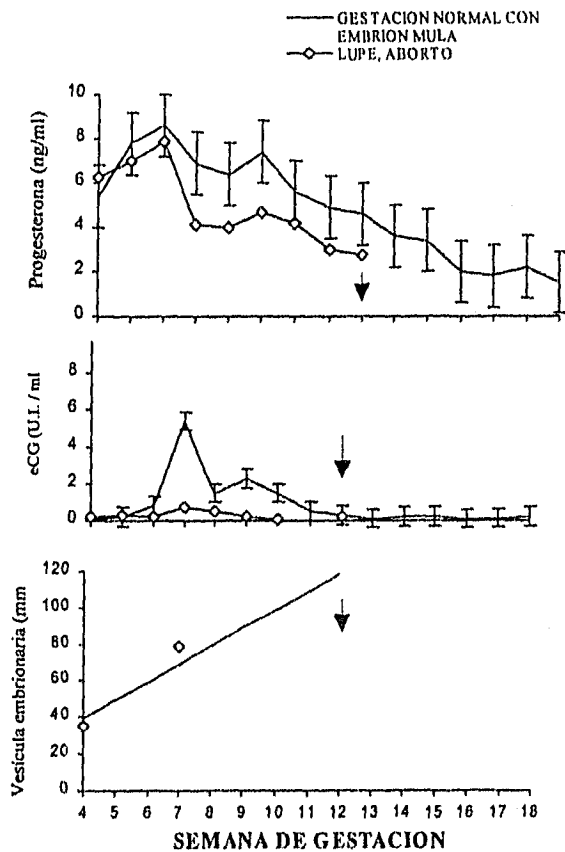


Figura 4.16. Concentraciones de progesterona y eCG en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión mula que sufrió muerte fetal primaria. Las flechas indican el momento en que se registró la muerte fetal.

En la yegua "Nereida" (Figura 4.17) el diámetro de la vesícula embrionaria siempre se mantuvo dentro del promedio. La última vez que el feto fue visto vivo la progesterona estaba elevada a pesar de que la eCG había bajado 5 semanas antes. En el día 89 de la gestación no se encontró la vesícula a la palpación rectal, ni se vio el feto ni el latido cardíaco al realizarle el ultrasonido. Las concentraciones de progesterona sufrieron una caída importante (0.64 ng/ml) con respecto a la semana anterior, mientras que la eCG se encontraba en ceros. En este caso aparentemente se produjo una regresión repentina del cuerpo lúteo, lo que provocó la muerte fetal.

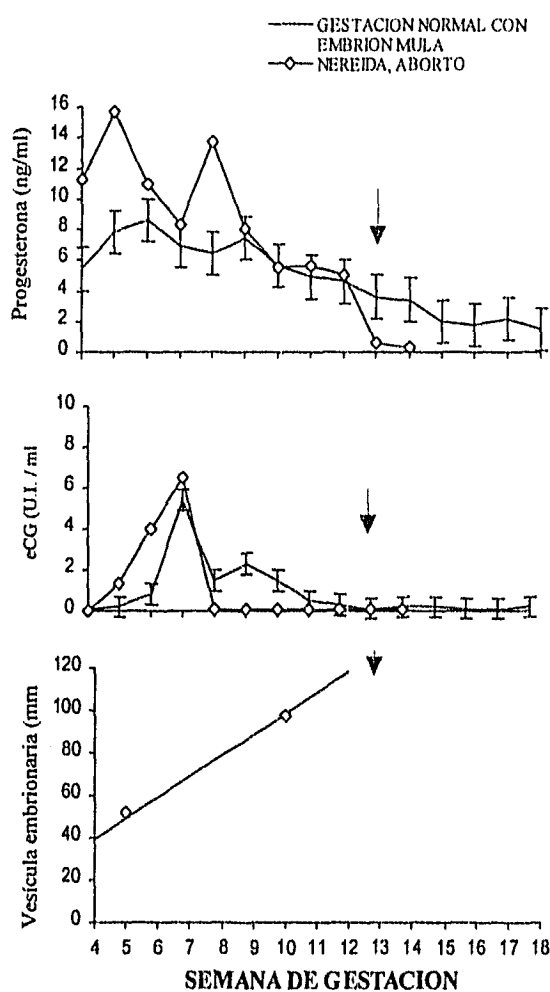


Figura 4.17. Concentraciones de progesterona y eCG en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión mula que sufrió aborto por regresión repentina del cuerpo lúteo. Las flechas indican el momento en que se registró la muerte fetal.

En la yegua “Franela” (Figura 4.18) las concentraciones de progesterona fueron muy similares al promedio encontrado en gestaciones normales, y las concentraciones de eCG fueron ligeramente superiores al promedio de gestaciones normales, presentándose un pico entre los días 44 y 82, para después disminuir a un nivel basal. En la examinación de la semana 16 se encontró el feto vivo y los niveles de progesterona (2.37 ng/ml) eran normales para esa etapa de la gestación. Sin embargo, en el día 122 de la gestación (semana 17) el animal arrojó membranas fetales por la vulva y a la revisión ultrasonográfica no se encontró el feto. Los niveles de progesterona en ese día estaban bajos (0.26 ng/ml). Debido a la abrupta caída en las concentraciones de progesterona se considera que la posible causa del aborto fue una regresión lútea primaria.

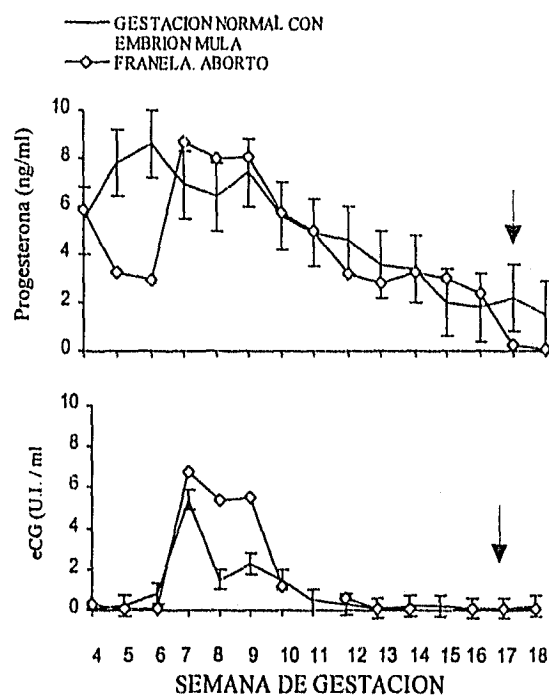


Figura 4.18. Concentraciones de progesterona y eCG en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión mula que sufrió aborto por regresión repentina del cuerpo lúteo (luteolisis primaria). Las flechas indican el momento en que se registró la muerte fetal.

En la yegua “Golondrina” (Figura 4.19) la velocidad de crecimiento de la vesícula embrionaria fue normal. El aborto ocurrió en el día 99 de la gestación, cuando arrojó por la vulva

las membranas fetales. Las concentraciones de progesterona en ese día se encontraban disminuidas (0.71 ng/ml), siendo que una semana antes estaban elevadas (15.22 ng/ml) y el feto se encontraba vivo. Las concentraciones de eCG habían disminuido en forma prematura, regresando a niveles basales desde la semana 8 de la gestación. La causa del aborto fue la regresión repentina del cuerpo lúteo. Sin embargo, dicha luteolisis fue de tipo primario, y no fue debida a falta de eCG, ya que las concentraciones de ésta hormona habían disminuido desde 6 semanas antes, a pesar de lo cual el cuerpo lúteo siguió produciendo cantidades elevadas de progesterona hasta justo antes de producirse el aborto.

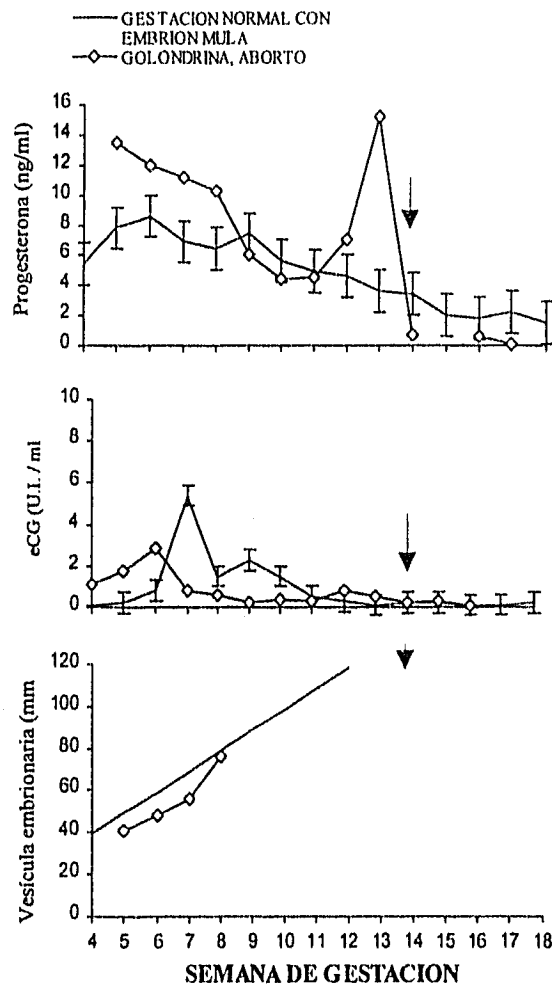


Figura 4.19. Concentraciones de progesterona y eCG, y diámetro de la vesícula embrionaria en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión mula que sufrió aborto por regresión lútea primaria. Las flechas indican el momento en que se registró la muerte fetal.

En la yegua "Princesa 2A"(Figura 4.20)el crecimiento de la vesícula embrionaria fue ligeramente mas lento que lo normal desde el inicio de la gestación. En el día 83 de la gestación (semana 12), las concentraciones de progesterona eran normales (5.27 ng/ml) y el feto tenía latido cardiaco, pero para el día 88 se presentó salida de membranas fetales por vagina y en el muestreo de la semana 13 las concentraciones de progesterona se encontraban casi en cero. Las concentraciones de eCG se mantuvieron más elevadas que el promedio para gestaciones normales durante casi toda la gestación, regresando a niveles basales en la semana 10. La causa del aborto fue una regresión lútea primaria.

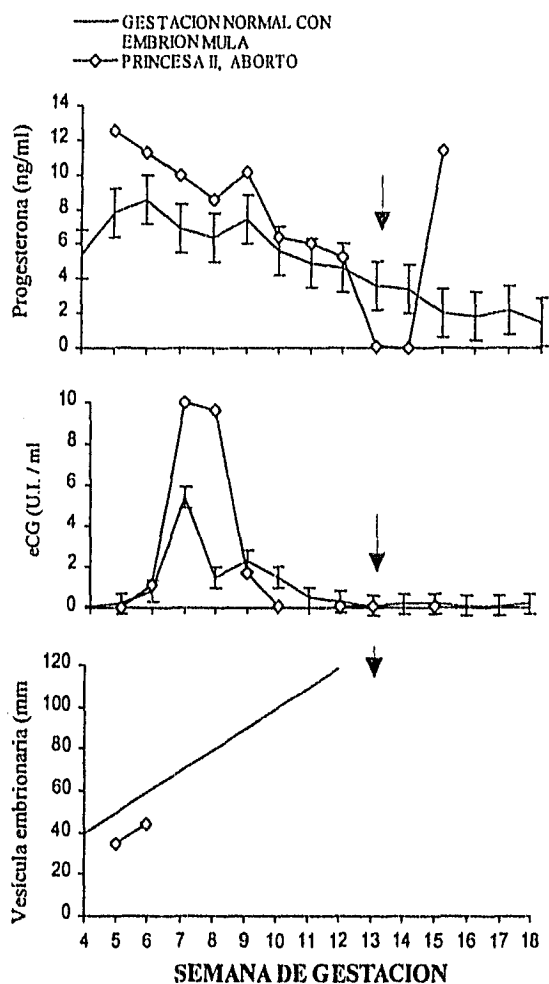


Figura 4.20. Concentraciones de progesterona y eCG en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión mula que sufrió muerte fetal por regresión repentina del cuerpo lúteo (luteolisis primaria). Las flechas indican el momento en que se registró la muerte fetal.

En la yegua "India" (Figura 4.21) el crecimiento de la vesícula embrionaria fue normal. Las concentraciones de progesterona fueron normales hasta la semana 12 de la gestación. Al realizar el examen ultrasonográfico de la semana 12 (día 85) no se encontró al feto. En ese momento las concentraciones de progesterona aún eran normales para esa etapa de la gestación, pero regresaron a niveles basales una semana después de producirse el aborto. Las concentraciones de eCG no fueron detectables durante la mayor parte de la gestación. Sin embargo, esta deficiencia de eCG no fue responsable de la muerte embrionaria ya que las concentraciones de progesterona se mantuvieron normales a pesar de la posible falta de apoyo gonadotrópico, y solo bajaron después de morir el feto. Como la progesterona estaba elevada al producirse el aborto se considero como aborto de origen no endocrino, clasificándose como muerte fetal primaria.

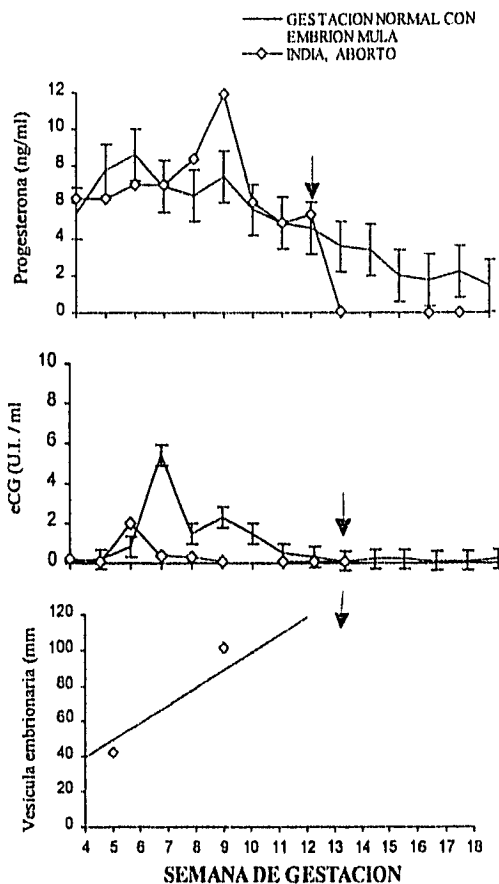


Figura 4.21. Concentraciones de progesterona y eCG, y diámetro de la vesícula embrionaria en diferentes semanas de la gestación en una yegua gestante con embrión mulo que sufrió muerte fetal primaria. Las flechas indican el momento en que se registró la muerte fetal.

En el cuadro 2 se muestra la clasificación de las pérdidas de gestación de acuerdo a su posible causa. Se puede observar que solamente un aborto puede atribuirse a una deficiencia en la producción de eCG (deficiencia lútea secundaria), y dicho caso se presentó en una yegua gestante con embrión equino. El otro caso en el que se presentó una deficiente función lútea también ocurrió en yegua con embrión equino, y no se encontró asociado con una baja producción de eCG por lo que se clasificó como deficiencia lútea primaria. La causa más frecuente de pérdida de la gestación fue la regresión lútea repentina (2 casos en yegua con embrión equino y 4 casos en yegua con embrión mula). Ninguno de éstos casos de regresión lútea fue debido a falta de eCG, por lo que se clasificaron como luteolisis primarias. Además, en tres yeguas servidas con burro y en una yegua servida con caballo se presentaron abortos que no fueron precedidos por alteraciones en las concentraciones de progesterona, por lo que se clasificaron como muerte fetal primaria. Finalmente, en una yegua servida con caballo se produjo muerte embrionaria por tratarse de una gestación gemelar. No se encontró un solo caso de aborto por regresión prematura de las copas endometriales en yeguas gestantes con embrión mula.

Cuadro 2. Clasificación de las muertes del producto de acuerdo a la posible causa en yeguas servidas con caballo y yeguas servidas con burro

| Causa Probable | Embrión equino | Embrión Mula |
|--|----------------|--------------|
| Deficiencia lútea primaria | 1 | 0 |
| Deficiencia lútea secundaria (por falta de eCG) | 1 | 0 |
| Luteolisis primaria | 2 | 4 |
| Muerte fetal primaria | 1 | 3 |
| Gestación gemelar | 1 | 0 |

V. DISCUSION

En el presente trabajo se confirmaron los perfiles de progesterona y eCG que han sido encontrados previamente en yeguas servidas con caballo (Nett et al, 1975; Kindahl et al, 1982; Allen, 1984; Allen y Stewart, 1993) y en yeguas servidas con burro (Allen, 1982; Allen et al, 1993a). En las yeguas servidas con caballo que mantuvieron una gestación normal las concentraciones de progesterona comenzaron a elevarse a partir de la semana 6 (día 42), coincidentemente con el inicio en la producción de eCG (Figuras 4.1 y 4.2). Se considera que esta elevación en las concentraciones de progesterona alrededor del día 40 de la gestación es debida a la aparición de la eCG, la cual estimula al cuerpo lúteo primario y promueve la aparición de cuerpos lúteos secundarios (Bergfelt et al, 1989). Las concentraciones de ambas hormonas se mantuvieron elevadas desde la semana 7 hasta la semana 13 (día 91). A partir de ese momento las concentraciones de eCG comenzaron a disminuir hasta llegar a niveles basales en la semana 18 (día 126), tal como ha sido informado por otros autores (Ginther, 1992). La disminución en las concentraciones de progesterona fue mucho más gradual y en el día 26 todavía se encontraron niveles promedio superiores a 5 ng/ml.

Tanto los niveles de progesterona como los de eCG fueron significativamente menores en las yeguas servidas con burro comparadas con las servidas con caballo ($p < 0.05$). Además, las concentraciones de eCG regresaron a niveles basales mucho antes (semana 12) en yeguas servidas con burro comparadas con yeguas servidas con caballo (semana 18) (Figura 4.2). En el presente trabajo es evidente que las bajas concentraciones de eCG presentes en las yeguas servidas con burro no estimularon la función lútea, por lo que las concentraciones de progesterona circulante no mostraron el incremento asociado con la elevación de eCG que ocurrió a partir de la sexta

semana de gestación en las yeguas gestantes con embrión equino (Figura 4.1). Aunque no se evaluó en el presente estudio, las bajas concentraciones de progesterona en yeguas con embrión mula comparadas con yeguas con embrión equino sugieren que en las primeras las concentraciones de eCG fueron insuficientes para provocar ovulaciones secundarias durante la gestación, lo que probablemente no ocurrió en las yeguas servidas con burro. Es importante recordar que en la elaboración de las figura 4.1 y 4.2 solamente se utilizaron yeguas que mantuvieron una gestación normal, por lo que los bajos niveles de eCG y progesterona en yeguas con embrión mula no afectaron la sobrevivencia embrionaria.

La deficiente función y rápida regresión de las copas endometriales en yeguas gestantes con embrión mula ha sido descrita previamente, y se debe a un rechazo inmunológico prematuro (Allen, 1982; Allen et al, 1993). El genotipo fetal y el genotipo paterno influyen en el desarrollo de las copas endometriales y su capacidad de secreción de eCG, por lo que en embriones mulas (padre burro) el resultado es un desarrollo pobre del cinturón coriónico seguido por el establecimiento de un número reducido de pequeñas copas endometriales. Por esta razón la cantidad de eCG que entra a la circulación materna está disminuida (Allen, 1982).

En el presente trabajo la velocidad de crecimiento de la vesícula embrionaria fue ligeramente mayor en yeguas servidas con burro (1.41 mm/día) que en las servidas con caballo (1.27 mm/día), sin embargo las diferencias no fueron significativas (figuras 4.3 y 4.4). La velocidad de crecimiento fue similar a la observada por Ginther (1986) tanto en yeguas como en ponies. Tanto en el presente estudio como en el de Ginther (1986) el diámetro de la vesícula en el día 45 de la gestación fue de aproximadamente 60 mm. Es interesante señalar que la vesícula de embriones mulas creció ligeramente mas rápido que la de embriones equinos a pesar de que las concentraciones de progesterona en las yeguas servidas con mulas fueron significativamente

menores a las de las yeguas servidas con caballo. Esto sugiere que las concentraciones de progesterona no están relacionadas con la velocidad de desarrollo embrionario, y si bien existe un umbral mínimo de progesterona requerido para mantener la gestación, una elevación adicional por encima de dicho umbral no estimula el desarrollo embrionario.

En el caso de yeguas servidas con caballo, tanto el porcentaje total de pérdida de gestación (21.4%) como su distribución en muerte embrionaria (antes del día 40, 10.7%) y aborto (después del día 40, 10.7%) fueron similares a los informados por otros autores (Ginther, 1993). En un estudio realizado en México con yeguas pura sangre se encontró un porcentaje de pérdida de gestación del 14.18% hasta el día 60 (Gutiérrez et al, 1989), lo que es parecido al 10.7% encontrado en el presente trabajo hasta el día 40.

En el presente trabajo se confirmó la baja eficiencia reproductiva de yeguas servidas con burro, ya que se registró un 36.8 % de pérdidas de la preñez durante los primeros 5 meses de la gestación. Es interesante mencionar que en éste tipo de animales no se registró un solo caso de muerte embrionaria entre el día del diagnóstico de gestación (día 16-20) y el día 40 de la gestación. Todas las pérdidas en la gestación fueron clasificadas como abortos por haberse producido después del día 40 de la gestación. Es posible que se hayan producido muertes embrionarias antes del diagnóstico inicial, sin embargo, en caso de haberse presentado muerte embrionaria temprana su incidencia fue baja, ya que el 76% (19 de 25) de las yeguas inseminadas fueron encontradas gestantes después del primer servicio. En la literatura no existen informes sobre incidencia ni distribución temporal de muerte embrionaria o fetal en yeguas servidas con burro.

Algunos autores han encontrado que la falla en la formación del cinturón coriónico y de las copas endometriales pueden ocasionar una alta mortalidad fetal entre los días 80 y 90 de la

gestación en yeguas a las que se les transfieren embriones de burro (Ball, 1993). En el presente trabajo, el aborto en yeguas servidas con burro ocurrió en promedio en el día 93 de la gestación, lo que aparentemente coincide con lo que ocurre en yeguas transferidas con embrión burro. Sin embargo, en ningún caso el análisis de los perfiles hormonales antes del aborto sugirió que la muerte del embrión se haya debido a una deficiente función del cuerpo lúteo ocasionada por una falla en la producción de eCG. Aunque en todos los casos de aborto en yeguas con embrión mula las concentraciones de eCG regresaron a niveles basales entre la semana 8 y la semana 12 de la gestación, esto también ocurrió en las yeguas con embrión mula que no perdieron la gestación, lo que sugiere que no es indispensable mantener elevada la eCG hasta la semana 18 (como ocurre en yeguas servidas con caballo) para mantener la gestación. Además, en tres de los abortos (Fig. 4.15, 4.16 y 4.21) las concentraciones de progesterona estaban elevadas al producirse el aborto, lo que indica que los cuerpos lúteos seguían funcionando adecuadamente a pesar de haberse producido la regresión de las copas endometriales varias semanas antes. En los otros cuatro abortos la caída en las concentraciones de progesterona fue tan repentina que sugiere un proceso luteolítico activo (por liberación de prostaglandina F2 alfa) más que una pérdida de función lútea por falta de apoyo gonadotrópico.

El hecho de que la regresión prematura de las copas endometriales no haya provocado el aborto por alteraciones endocrinas no necesariamente significa que no tenga relación con la elevada incidencia de aborto en yeguas gestantes con embrión mula. La regresión prematura de las copas endometriales es un signo de una respuesta inmune exacerbada de la madre en contra de antígenos de histocompatibilidad del cinturón coriónico del feto híbrido (Allen et al, 1993a; 1993b). Esto ocasiona que desde el día 45 de la gestación haya una pronta respuesta inmune celular hacia las copas endometriales, y la aparición en el suero materno de anticuerpos en contra

de los linfocitos paternos. Este tipo de anomalías inmunológicas podrían afectar no solamente a las copas endometriales, sino también a otros tejidos fetales, y podrían provocar casos de muerte fetal espontánea como los encontrados en las yeguas "Ardilla" (Figura 4.15), "Lupe" (Figura 4.16), e "India" (Figura 4.21). Allen et al (1993b) obtuvieron embriones mulas mediante el lavado uterino de yeguas servidas con burro. Después de biseccionar los embriones, colocaron una mitad de cada embrión en yeguas receptoras y la otra mitad en burras receptoras. A los 62 días de gestación sacrificaron a las receptoras y realizaron cortes del endometrio, encontrando que en las yeguas con embrión mula las copas endometriales estaban más delgadas, pequeñas y flácidas que en las burras que llevaban embriones genéticamente idénticos a los de las yeguas. Además, en las yeguas el tejido endometrial estaba necrótico, muy degenerado y fuertemente infiltrado por leucocitos maternos. Este tipo de daño podría matar directamente al embrión sin necesidad de provocar alteraciones en la función del cuerpo lúteo. Por otra parte, Allen et al (1982) encontraron que si se transfieren embriones burro a yeguas se produce una falla en la formación de los microcotiledones placentarios, resultando en muerte embrionaria entre el día 40 y 90 de la gestación, a pesar de que los fetos crecieron normalmente hasta ese momento. Aunque los embriones mula objeto del presente estudio son diferentes a embriones de burro, no se puede descartar que en gestaciones híbridas se produzcan en ciertos casos alteraciones en la formación de la placenta que resulten en la muerte fetal.

Resulta paradójico que el único caso de muerte fetal que posiblemente haya sido ocasionado por una falla en la producción de eCG ocurrió en una yegua servida con caballo (Yegua 491, Figura 4.9). En esta yegua las concentraciones de progesterona y de eCG siempre fueron muy bajas, por lo que la muerte del feto pudo haberse debido a deficiencia de progesterona ocasionada por falta de un apoyo luteotrópico de parte de la eCG. La misma yegua posteriormente tuvo una

gestación a término en la que la progesterona siempre se mantuvo en niveles bajos (similares a los de gestación de yeguas con embrión mulo) y la eCG se mantuvo en niveles casi indetectables. Esto sugiere que puede haber yeguas con predisposición a evitar la formación de copas endometriales o a destruirlas prematuramente. La producción de eCG es una característica muy heredable (Manning, 1987), por lo cual se explica que la misma yegua produzca bajos niveles de eCG y progesterona durante diferentes gestaciones, lo que sugiría que este tipo de yeguas no deben ser seleccionadas para pie de cría, ya que su progenie también va a tener niveles bajos de eCG, que pueden poner en riesgo a la gestación. Sin embargo, lo ocurrido en la yegua 491 también demuestra que la eCG no es indispensable para mantener una gestación normal, ya que esta puede llevarse a cabo normalmente aún con la reducida función de un cuerpo lúteo que no es estimulado por la eCG (Figura, 4.10). Resulta interesante que en la yegua 491 la gestación que se perdió comenzó el primero de marzo, mientras que la gestación completada con éxito comenzó el primero de Julio. Aunque en ninguna de las dos se produjo eCG entre las semanas 6 y 8, y en ambas las concentraciones de progesterona fueron mas bajas de lo normal, los niveles de ésta última hormona durante las semanas 6 a 8 fueron mayores en la gestación exitosa que en la gestación perdida. Esto puede sugerir que la eCG no es necesaria cuando la gestación se inicia en plena época reproductiva (por ejemplo Julio) , ya que en ese caso el animal puede producir suficiente LH hipofisaria para mantener una suficiente función lútea. En cambio, cuando una gestación se inicia antes o después de la época reproductiva plena, podría ocurrir que la inhibición hipotálamo-hipofisaria característica de éstas etapas (Ginther, 1992) resultara en una secreción de LH insuficiente para estimular el cuerpo lúteo, siendo entonces fundamental la secreción de eCG. Si la necesidad de eCG fuese estacional podría adquirir mayor sentido el hecho de que

exista una hormona sin la cual la gestación puede proseguir normalmente, como fue aparentemente el caso de la yegua 491 y de varias yeguas servidas con burro. Sería interesante estudiar la incidencia de mortalidad embrionaria en yeguas servidas con burro al final de la época reproductiva, de tal forma que la primera mitad de la gestación transcurra durante la época de anestro. En el presente experimento todas las yeguas gestadas con burro fueron servidas durante Junio y Julio, por lo que los primeros meses de la gestación transcurrieron en plena época reproductiva.

Como ya se mencionó, en el presente trabajo no se encontró evidencia de mortalidad embrionaria o fetal por falta de producción de eCG, aunque no se descarta el papel de una respuesta inmune excesiva como causa de los tres abortos clasificados como "muerte fetal primaria". Otra causa de muerte fetal primaria son los factores intrínsecos al embrión (genéticos, cromosómicos). Las anomalías cariotípicas no son tan comunes, mientras que los defectos genéticos causan una pérdida embrionaria debido a una eliminación normal de genotipos defectuosos (Ball, 1993). La muerte embrionaria también puede deberse a alteraciones en el medio ambiente uterino debidas a factores nutricionales o infecciosos (Sharp, 1995).

En el presente trabajo se encontró un caso de muerte embrionaria debida aparentemente a una deficiencia lútea primaria en una yegua servida con caballo (yegua 476, Figura 4.5). El embrión murió en el día 28, y la secreción de progesterona siempre se mantuvo considerablemente por debajo de lo normal, lo cual se ha asociado a una pérdida embrionaria espontánea (Ginther, 1985). Ginther (1986) concluyó que la falla lútea primaria, aunque poco común, puede ser una causa de muerte embrionaria entre el día 20 y 40 de la gestación. Sin embargo, resulta interesante que la misma yegua 476 tuvo posteriormente una gestación completa a pesar de que también en dicha gestación también mantuvo niveles de progesterona por debajo de lo normal (Figura 4.6).

La causa más común de muerte del producto, tanto en yeguas servidas con caballo (2 casos) como en yeguas servidas con burro (4 casos) fue la regresión repentina (primaria) del cuerpo lúteo. En estos 6 casos los niveles hormonales fueron normales hasta la última vez que se confirmó la viabilidad fetal (Figuras 4.7,4.11, 4.17, 4.18, 4.19, 4.20). En la siguiente examinación las concentraciones de progesterona habían disminuido dramáticamente, lo que se asoció con la desaparición de la vesícula embrionaria o la expulsión del producto. Una caída tan repentina en las concentraciones de progesterona sugiere un proceso luteolítico activo, el cual puede deberse entre otras causas a endometritis crónica (Daels et al, 1989) , exposición a endotoxinas (Daels et al, 1991), o a una falla del embrión para transmitir el mensaje que bloquea la liberación de PGF2 alfa (Sharp, 1995). La secreción luteolítica de PGF2 alfa durante la gestación puede producirse como resultado de la absorción de endotoxinas a partir del aparato gastrointestinal (cólico, infecciones por bacterias Gram negativas), o por la entrada de endotoxinas a partir de heridas (Daels et al , 1991). La presencia de bacterias Gram negativas se asocia a la producción de endotoxinas en enfermedades como enteritis, mastitis y endometritis (Daels et al, 1987). Las endotoxinas son poderosos inductores de la secreción de prostaglandina F2 alfa en diversos órganos, por lo que provocan una elevación en las concentraciones de PGF2 alfa circulante que resulta en luteolisis (Daels et al, 1987). Se ha demostrado que la administración de endotoxinas puede inducir el aborto en cerdas (Cort y Kindahl, 1990) y en yeguas (Daels et al, 1987).

En la yegua 883 que tuvo mortalidad embrionaria ocurrió antes de formarse las copas endometriales y con altos niveles de progesterona, por lo que la causa de la pérdida de gestación fue debida a gestación gemelar.

VI. CONCLUSIONES

En este trabajo se concluye que aunque las concentraciones de eCG circulantes en yeguas servidas con burro son significativamente menores a las de las yeguas servidas con caballo, esto no parece afectar la función del cuerpo lúteo hasta el punto de provocar la muerte embrionaria o el aborto. La mayor parte de las pérdidas de gestación se debieron a causas no endocrinas (muerte fetal primaria) o a regresión repentina del cuerpo lúteo probablemente debida a secreción de Prostaglandinas F2 alfa.

VII. LITERATURA CITADA

- Allen, W. R., Hamilton, D.W. and Moor, R.M. Origin of the equine endometrial cups. 2. Invasión of the endometrium by trophoblast. Anat. Rec. 177:485-502 (1973).
- Allen, W.R.: Immunological aspects of the endometrial cup reaction and the effect of xenogeneic pregnancy in horse and donkeys. J. Reprod. Fert. Suppl. 31:57-94. (1982).
- Allen, W.R.: Hormonal control of early pregnancy in the mare. Anim. Reprod. Sci. 7:269-282, (1984).
- Allen, W.R., Kydd, J.H., Boyle, M.S. and Antczak, D.F.: Extraspecific donkey-in-horse pregnancy as a model of early fetal death. J.Reprod. Fert., Suppl. 35, 197-209 (1987).
- Allen, W.R. and Cooper, M.J. Prostaglandins. In: McKinnon, A.O. and Voss, J.L. Equine Reproduction. Lea and Febiger. Philadelphia, 1993, pp. 69-80.
- Allen, W.R. and Stewart, M.J. : Equine chorionic gonadotrophin. in: McKinnon, A.O. and Voss, J.L. Equine Reproduction. Lea and Febiger. Philadelphia, 1993. pp. 81-96.
- Allen, W.R., Kydd, J.H. and Antczak, D.F.: Interespecies and extraspecies equine pregnancies. In: McKinnon, A.O. and Voss, J.L. Equine Reproduction. Lea and Febiger. Philadelphia, 1993a. pp.536-553.
- Allen, W.R., Skidmore, J.A., Stewart, F. and Antczak, D.F.: Effects of genotype and uterine environment on placenta development in equids. J. Reprod. Fert. 97:55-60 (1993b).
- Ball, B.A., Woods, G.L.: Pregnancy wastage in mares. Proc. Ann. Meet. Soc. Therio., Nashville. pp.120-125 (1986).
- Ball, B.A.: Embryonic loss and early pregnancy loss in the mare. Compendium: Equine 9:459-470, (1987).
- Ball, B.A. Shin, S.J., Patten, V.H., garcía, M.C. and Woods, G.L.: Embryonic loss in pony mares induced by intrauterine infusion of *Candida parapsilosis*. Theriogenology, 29:835-847. (1988)
- Ball, B.A., Embryonic Death in Mares. In: McKinnon, A.O. and Voss, J.L. (eds). Equine Reproduction. Lea & Febiger. Philadelphia. 1993. pp. 517- 531.
- Beltran, J.M.: La producción equina en Cataluña. I. Estudio general de este problema. II. Importancia que revisten las crias caballar, mular y asnal. Ganaderia, Madrid 8,23-25 680-682 (1949-1950)

Bergfelt, D.R., Pierson, R.A. and Ginther, O.J.: Resurgence of the primary corpus luteum during pregnancy in the mare. Animal Reproduction Science. 21:261-270 (1989).

Bergfelt, D.R., Woods, J.A. and Ginther, O.J.: Role of the embryonic vesicle and progesterone in embryonic loss in mares. J. Reprod. Fert. 95, 339-347 (1992).

Boeta, A.M y Zarco, L.: Uso de la leche comercial ultrapasteurizada como diluyente en semen de burro para la inseminación de yeguas para producir mulas. Memorias del Congreso Anual de la Asociación Mexicana de Médico Veterinarios Especialistas en Equinos, 1996.

Bousfield, G.R., Liu, W.-K. Sugino, H. and Ward, D.N.: Structural studies on equine glycoprotein hormones. Amino acid sequence of equine lutropin β -subunit. J. Biol. Chem. 262:8610-8620 (1987).

Christakos, S. and Bahl, O.P.: Pregnant mare serum gonadotropin purification and physicochemical, biological and immunological characterization. J. Biol. Chem. 254:4253-4258 (1979).

Cort, N. and Kindahl, H. Endotoxin-induced abortion in early pregnant gilts and its prevention by flunixin meglumine. Acta vet. Scand. 31:347-358 (1990).

Daels, P.F., Starr, M., Kindahl, H., Fredriksson, G., Hughes, J.P. and Stabenfeldt, G.H. Effect of Salmonella typhimurium endotoxin on PGF 2α release and fetal death in the mare. J. Reprod. Fert., Suppl 35:485-492 (1987).

Daels, P.F., Stabenfeldt, G.H., Kindahl, H. and Hughes, J.P.: Prostaglandin release and luteolysis associated with physiological and pathological conditions of the reproductive tract in the mare. A review, Equine Vet. J. Suppl. 8:29-34 (1989).

Daels, P.F., Stabenfeldt, G.H., Hughes, J.P., Odensvik K, Kindahl, H.: Evaluation of progesterone deficiency as a cause of fetal death in mares with experimentally induced endotoxemia. Amer. J. Vet. Res. 52:282-288 (1991).

Daels, P.F. and Hughes, J.P. The normal estrous cycle. In: McKinnon, A.O. and Voss, J.L. Equine Reproduction. Lea & Febiger, Philadelphia. 1993. pp. 121-132.

Darenius, K., Kindahl, H. and Madej, A.: Clinical and endocrine aspects of early death in the mare. J. Reprod. Fert., Suppl. 35, 497-498, (1987).

Douglas, R.H. Ginther, O.J. Effect of prostaglandin F 2 alfa on length of diestrus in mares. Prostaglandins 2:265-268, 1972.

Evans, M.J. and Irvine, C.H.G.: Serum concentrations of FSH, LH and progesterone during the oestrus cycle and early pregnancy in the mare. J. Reprod. Fert. Suppl. 23:293-300 (1975).

Flood, P.F.: Fertilization, early development, and the establishment of the placenta In: McKinnon, A.O. and Voss, J.L. Equine Reproduction. Lea and Febiger. Philadelphia, 1993. pp. 473-483.

Ginther, O. J. Fixation and orientation of the early equine conceptus. Theriogenology 19:613-623 (1983).

Ginther, O. J. Intrauterine movement of the early conceptus in barren and postpartum mares. Theriogenology 21:633-644 (1984).

Ginther, O. J.: Dynamic physical interactions between the equine embryo and uterus. Equine Vet. J. Suppl. 3:41-47 (1985).

Ginther, O.J. Ultrasonic Imaging and Reproductive Events in the Mare. Equiservices Cross Plains, WI. 1986.

Ginther, O.J. Reproductive Biology of the Mare. Second edition. Equiservices. Cross Plains, 1992.

Gutierrez, A., Botta, S., Saltiel, A y Zarco, L.: Estudio Retrospectivo sobre reabsorción embrionaria en yeguas: Análisis de 430 gestaciones. Memorias del XI Congreso Anual de la Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Equinos. 1989.

Heap, R.B., Hamon, M.H. and Allen, W.R.: Oestrogen production by the preimplantation donkey conceptus compared with that of the horse and the effect of between-species embryo transfer. J.Reprod Fert. 93, 141-147 (1991).

Hershman, L. and Douglas, R.H.: The critical period for the maternal recognition of pregnancy in mares. J. Reprod. Fertil. Suppl. 27:395-401 (1979).

Holtan, D.W., Squires, E.L., Lapin, D.R. and Ginther, O.J.: Effect of ovariectomy on pregnancy in mares. J. Reprod. Fertil. Suppl. 27:457-463 (1979).

Jordao, L.P., De Camargo, M.X. y Gouveia, P.F.: Eficiência, na reprodução, das éguas mulateiras da Coudelaria Paulista. Bol. Industr. animal, N.S., 14:49-62 (1954).

Jeffcott, L.B., Hyland, A.A., MacLean, T. Dyke and Smith-Robertson, G.: Changes in maternal hormone concentrations associated with induction of fetal death at days 45 of gestation in mares. J. Reprod. Fert., Suppl. 35:461-467 (1987).

Kindhal, H., Knudsen, O., Madej, A. and Edqvist L-E.: Progesterone, prostaglandin f-2 α , PMSG and Oestrone sulphate during early pregnancy in the mare. J.Reprod. Fertil. Suppl. 32:353 (1982).

Kydd, J.H., Butcher, G.W., Antzak, D.F. and Allen, W.R.: Expression of Major Histocompatibility Complex (MHC) class I molecules on early trophoblast. J. *Reprod. Fert. Suppl.* 44:463-477 (1991).

Lofstedt, R.M.: Termination of unwanted pregnancy in the mare. In: Morrow, D.A.(Ed.) *Current Therapy in Theriogenology 2*. W.B. Saunders Company, 1986. pp. 715-718.

Madej, A., Kindahl, H., Nydahl, C., Edqvist, L.-E. and Stewart, D.R.: Hormonal changes associated with induced late abortions in the mare. *J. *Reprod. Fert., Suppl.** 35, 479-484 (1987)

Murphy, B.D. and Martinuk, S.D.: Equine chorionic gonadotrophin. *Endocrine reviews*, 12:27-44 (1991).

Nett, T.M., Holtan, D.W. and Estergreen, V.L.: Oestrogens, LH, PMSG and prolactin in serum of pregnant mares. *J. *Reprod. Fert. Suppl.** 23:457-462 (1975).

Papkoff, H.: Chemical and biological properties of the subunits of pregnant mare serum gonadotropin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 58:397-404 (1974).

Pulido, A., Zarco, L., Galina, C.S., Murcia, C., Flores, G. y Posadas, E.: Progesterone metabolism during storage of blood samples from gyr cattle: Effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology* 35: 965-975 (1991).

Roser, J.F. and Lofstedt, R.M.: Urinary eCG patterns in the mare during pregnancy. *Theriogenology* 32: 607-622 (1989).

Sharp, D.C.: Mortalidad embrionaria en la yegua. En *Memorias del Segundo Curso Internacional de Reproducción Equina*. Academia de la Investigación en Biología de la Reproducción. México, D.F., 1995. pp. 46-63.

Squires, E.L.: Endocrinology of pregnancy. In: Mckinnon, A.O. and Voss, J.L. *Equine Reproduction*. Lea and Febiger. Philadelphia, 1993. pp. 495-500.

Stewart, F., Allen, W. R. and Moor, R.M.: Influence of foetal genotype on the follicle stimulating hormone luteinizing hormone ratio of pregnant mare serum gonadotropin. *J. *Endocrinol.** 73:419-425 (1977).

Sugino, H., Bousfield, G.R., Moore, W.T. and Ward, D.N.: Structural studies on equine glycoprotein hormones. Amino acid sequence of equine chorionic gonadotropin β -subunit. *J. *Biol. Chem.** 262:8603-8609 (1987).

Terqui, M. and Palmer, E.: Oestrogen pattern during early pregnancy in the mare. *J. *Reprod. Fertil. Suppl.** 35:441-446 (1979).

Valerie, E. Urwin and Allen, W.R.: Pituitary and chorionic gonadotrophic control of ovarian function during early pregnancy in equids. J. Reprod. Fert., Suppl. 32:371-381 (1982).

Zarco, L. y Boeta, M.: Manejo del servicio para lograr la óptima fertilidad. En Memorias del Segundo Curso Internacional de Reproducción Equina. Academia de Investigación en Biología de la Reproducción. México, D.F. 1995, pp.7-14.