



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN  
Y DE LA SALUD ANIMAL**

**RESISTENCIA AL EFECTO LUTEOLÍTICO DE LA PGF<sub>2</sub> $\alpha$  EN YEGUAS  
SERVIDAS CON CABALLO Y CON BURRO**

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

**PRESENTA**

**ELÍAS VELÁZQUEZ CANTÓN**

**TUTOR**

**Dr. LUIS ALBERTO ZARCO QUINTERO**

**COMITÉ TUTORAL**

**Dra. MARIA TERESA SÁNCHEZ TORRES**

**Dr. JOEL HERNÁNDEZ CERÓN**



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.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la máxima casa de estudios de este país: Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme hacer mis estudios de posgrado, en especial al Departamento de Reproducción de esta benemérita institución.

Al Dr. Luis Alberto Zarco Quintero, quien como mi asesor principal de esta investigación, depósito en mí confianza y me brindó la oportunidad de ser parte de este éxito y por brindarme los conocimientos y asesorías necesarias, muchas gracias Dr.

A mis asesores secundarios: la Dra. Ma. Teresa Sánchez Torres (Colegio de Posgraduados) y al Dr. Joel Hernández Cerón (FMVZ-UNAM), por haber sido parte de este trabajo de investigación.

A la Dra. Ana Myriam Boeta Acosta, quien amablemente siempre nos brindó la ayuda necesaria para que este trabajo culminara con éxito.

A la valiosa colaboración de Susana Rojas Maya, Ana Delia Rodriguez Cortez y Clara.....por ayudarme a realizar las mediciones hormonales de esta investigación.

A los Laboratorios Intervet S.A. de C.V. y Pet's Pharma de México S.A. de C.V., por la donación de medicamentos.

A mi amigo Daniel (mejor amigo ya sabes), quien ha estado al pie del cañón.

A Gilberto, quien como compañero de investigación he forjado una buena amistad.

## DEDICATORIAS

**A mis padres: Elías y Paty**, gracias por darme siempre lo mejor en todo momento.

**Mis Hermanos: Paty y Rafa**, los quiero por siempre.

**Tías: Elvia y Vero**, siempre están conmigo.

<b>ÍNDICE</b>	<b>Página</b>
<b>ÍNDICE</b>	I
<b>RESUMEN</b>	II
<b>ABSTRACT</b>	III
<b>I INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II REVISIÓN DE LITERATURA</b>	
Control Endócrino de la Reproducción en la yegua	4
Control Endócrino del Ciclo Estral	5
Hormona Folículo Estimulante y Hormona Luteinizante	8
Progesterona	10
Prostaglandina F2 $\alpha$	11
Biosíntesis y Metabolismo de la PGF2 $\alpha$	13
Rol de la PGF2 $\alpha$ en el Ciclo Reproductivo de la yegua	15
Desarrollo del Cuerpo Lúteo	16
Substratos Esteroidogénicos	19
Transporte de Colesterol	20
Conversión de Colesterol a Pregnenolona	20
Regulación Trópica de la Función Lútea	21
Luteólisis	22
Flujo Sanguíneo y Cambios Vasculares	24
Señalamiento Intracelular	24
Estrés Oxidativo	25
Gonadotropina Coriónica Equina (eCG)	
Estructura de la eCG	26
Secreción de la eCG en gestaciones de yeguas con caballo y con burro	27
Actividad Biológica de la eCG	29

<b>III HIPÓTESIS</b>	32
<b>IV OBJETIVO GENERAL</b>	32
<b>V OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	32
<b>VI MATERIAL y MÉTODOS</b>	33
<b>VII RESULTADOS</b>	35
Yeguas Gestantes con Embrión Caballo Experimentales	40
Yeguas Gestantes con Embrión Mula Experimentales	47
<b>VIII DISCUSIÓN</b>	54
<b>IX CONCLUSIONES</b>	58
<b>X LITERATURA CITADA</b>	59
<b>XI ANEXOS</b>	68

## ÍNDICE DE FIGURAS.

<b>Figura 1.</b> Eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónada y su distribución en la yegua	7
<b>Figura 2.</b> Variaciones en las concentraciones plasmáticas de la Hormona Folículo Estimulante en la yegua no gestante	9
<b>Figura 3.</b> Variaciones en las concentraciones plasmáticas de la Hormona Luteinizante en la yegua no gestante	10
<b>Figura 4.</b> Variaciones en las concentraciones plasmáticas de la Hormona Progesterona en la yegua no gestante	11
<b>Figura 5.</b> Variaciones en las concentraciones plasmáticas de la PGF2 $\alpha$ y P <sub>4</sub> en la yegua no gestante	12
<b>Figura 6.</b> Resumen de la concentración de hormonas plasmáticas y sus cambios durante el ciclo estral en la yegua no gestante	13
<b>Figura 7.</b> Biosíntesis de la Progesterona en una célula lútea	17
<b>Figura 8.</b> Resumen de los eventos endocrinológicos de la gestación en la Yegua	31

## I. RESUMEN.

El objetivo del presente trabajo fue el de evaluar la resistencia del efecto luteolítico que tiene la PGF2 $\alpha$  sobre el cuerpo lúteo en yeguas gestantes con embrión caballo y yeguas gestantes con embrión mula, así como el de evaluar las concentraciones en los niveles hormonales de Progesterona (P<sub>4</sub>), Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) y Sulfato de Estrona (E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) antes y después de administrar 1 ml (5 mg) de PGF2 $\alpha$  (Lutalyse) en el día 90 de la gestación. En este estudio se utilizaron 14 yeguas gestantes con embrión caballo y 14 yeguas gestantes con embrión mula, diagnosticadas mediante ultrasonido en el día 15 post-ovulación. En ambos grupos realizaron exámenes semanales hasta llegar al día 90 de la gestación, en las cuales se medía la vesícula embrionaria y se determinaba la viabilidad fetal (presencia de latido cardíaco y/o movimiento fetal). Al llegar al día 30 de la gestación y hasta el día 90 se obtuvieron 2 veces por semana muestras sanguíneas para la determinación de las siguientes hormonas: P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, con el objeto de evaluar la función de los cuerpos lúteos. Al llegar al día 90 de la gestación, a los grupos experimentales tanto de yeguas gestantes con embrión caballo (n=7) como de yeguas gestantes con embrión mula (n=7), se les aplicó 1 ml (5 mg) de PGF2 $\alpha$  natural (Lutalyse®) IM (Intramuscular); minutos antes a la aplicación de la PGF2 $\alpha$  se les tomó a cada yegua experimental una muestra de sangre para ver los niveles de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> antes de la aplicación del tratamiento y posteriormente sangrados cada 12 horas durante 5 días para observar el efecto de este luteolítico sobre los niveles de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con una sola dosis. A los grupos controles de yeguas gestantes con embrión caballo (n=7) y yeguas gestantes con embrión mula (n=7), se les administró 1 ml de SSF (solución salina fisiológica) y también se sangraron antes de la aplicación del tratamiento y posteriormente cada 12 horas durante 5 días. Solo se presentó 1 aborto en el grupo experimental de yeguas gestantes con embrión de mula. El promedio de los niveles hormonales tanto de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en yeguas gestantes con embrión mula (tanto en el grupo control como en el experimental), fueron por debajo comparadas con los grupos de yeguas gestantes con embrión caballo.

## II. ABSTRACT.

The objective of this research was to evaluate the resistance of the luteolytic effect of PGF<sub>2</sub>α in the corpus luteum in pregnancy mares with stallion embryo and donkey embryo, and evaluate the hormonal levels of progesterone (P<sub>4</sub>), equine chorionic gonadotropin (eCG) and oestrone sulphate (E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) before and after the application of 1 ml (5 mg) of PGF<sub>2</sub>α (Lutalyse) in the 90 day of pregnancy. It used 14 pregnancy mares with stallion embryo and 14 pregnancy mares pregnancy with donkey embryo detected by ultrasound in the 15 day of post-ovulation. In both groups make weekly examinations at the 90 day, in which been determinate the fetal viability of the embryonic vesicle (heart beat and/or fetal movement). To 30 at 90 day of pregnancy, take 2 times per week blood samples to evaluate the hormonal levels of P<sub>4</sub>, eCG and E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, with the objective to evaluate the function of the corpus luteum. In the 90 day of pregnancy, the experimental groups of mares pregnancy with stallion embryo (n=7) and mares pregnancy with donkey embryo (n=7) was apply 1 ml of natural PGF<sub>2</sub>α (Lutalyse®) via intramuscular (IM); minutes after the application of the PGF<sub>2</sub>α take blood samples every experimental mare to evaluate the levels of P<sub>4</sub>, eCG and E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> before the application of PGF<sub>2</sub>α, and then every 12 hours within 5 days to evaluate the luteolytic effect in the levels of P<sub>4</sub>, eCG and E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> with only one dose of PGF<sub>2</sub>α. The control groups, pregnancy with embryo stallion (n=7) and pregnancy with embryo donkey (n=7), was apply 1ml of FSS (physiological saline solution) and take blood samples before the application of FSS and then every 12 hours within 5 days. The experimental group constituted by mares pregnancy with donkey embryo, present only 1 abort. The average of the hormonal levels of P<sub>4</sub>, eCG and E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in mares pregnancy with donkey embryo (experimental and control group), was more less than in the groups of mares pregnancy with stallion embryo.

## RESISTENCIA AL EFECTO LUTEOLÍTICO DE LA PGF2 $\alpha$ EN YEGUAS SERVIDAS CON CABALLO Y CON BURRO

### I. INTRODUCCIÓN.

La muerte embrionaria o fetal es un importante origen de pérdidas económicas dentro de la industria equina, ya que en muchos países se ha estimado que la muerte presentada dentro de los 5 meses de la gestación está dentro del 13.5% y 75% aquella ocurrida después del día 75 de la gestación (Jeffcott *et al.*, 1987).

El aborto presente por parte de la hembra de cualquier especie, siempre será causa de preocupación debido no solo al impacto económico que éste pudiera tener, sino también como sucede en los caballos, el impacto emocional por parte de los propietarios (Izquierdo, 2006).

Las propiedades abortivas de la prostaglandina (PGF2 $\alpha$ ) fue inicialmente demostrada en especies de laboratorios; la preñez finalizó en el 100% de las ratas cuando se les administró dosis 3 veces al día de PGF2 $\alpha$  (Gutknecht, Cornette y Pharris, 1969). En humanos la PGF2 $\alpha$  ha sido utilizada con diversos grados de éxito, esto con la finalidad de terminar con la preñez (Hendriks, 1972). Recientemente, otros experimentos han demostrado la eficacia que posee la PGF2 $\alpha$  en diversas especies animales. Una infusión intravascular de la PGF2 $\alpha$  ha demostrado terminar con la gestación en vacas (Lauderdale, 1972), en cerdos (Dile y Day, 1973) y cabras (Currie y Thorburn, 1973) (Douglas *et al.*, 1974).

Desde varias décadas atrás, se ha demostrado la propiedad luteolítica que posee la PGF2 $\alpha$  en las hembras preñadas; por tal motivo, dicha prostaglandina se ha utilizado para inducir el aborto en muchas especies (Douglas *et al.*, 1975).

Existen muchas justificaciones para inducir el aborto en yeguas para efectuarlas en diferentes etapas de la gestación así como en todas las especies domésticas animales. El principal método utilizado para terminar con la preñez en la yegua es el uso de la PGF2 $\alpha$  o sus análogos (Madej *et al.*, 1987., Squires *et al.*, 1980; Douglas *et al.*, 1974).

Existen aplicaciones prácticas sobre la utilización de la PGF2 $\alpha$  utilizadas rutinariamente para controlar funciones reproductivas tales como: acortar el diestro (Allen, 1982), tratamiento para una endometritis, acortar la función lútea y para terminar con la preñez induciendo el aborto en diferentes estadíos de la gestación en las especies animales (Madej *et al.*, 1987).

Se ha establecido que la pérdida de la preñez se encuentra relacionada con una disminución en la producción de la hormona progesterona, así como también por: 1) Insuficiencia renal primaria, 2) Luteólisis debido a una inflamación uterina (endometritis) provocando liberación de PGF2 $\alpha$ , 3) Falla del embrión por prevenir la luteólisis y retornar al ciclo estral, 4) Luteólisis debido a una endotoxemia y 5) Estrés (Daels *et al.*, 2004).

En todos los casos en donde se aplique la PGF2 $\alpha$ , la concentración de progesterona en la sangre disminuye drásticamente al momento de administrarla y se mantiene uniforme al momento de la expulsión del feto (Squires *et al.*, 1993). En las horas que preceden a esto, hay una secreción sostenida de PGF2 $\alpha$ , que está asociada a la actividad miometrial, lo que provoca la separación de la placenta de la superficie del endometrio y, por consiguiente, expulsión del feto. Al parecer, la acción de la PGF2 $\alpha$  es mayor en gestaciones tempranas, que es cuando hay dependencia de secreción de progesterona por parte del cuerpo lúteo. Alrededor del día 70-80 de gestación, la contribución fetal de progesterona parece suficiente para mantener la preñez (Saint-Dizier *et al.*, 2007).

Cuando la PGF2 $\alpha$  se administra en la etapa del diestro en la yegua, resulta en una disminución de los niveles de progesterona entre las 12 y 24 horas, provocando luteólisis (Schawrz *et al.*, 2007). Cuando se aplican tratamientos con PGF2 $\alpha$  en el día 32 de la gestación, se detecta disminución de la progesterona en el suero 1 a 3 horas después. En otro estudio realizado una administración de PGF2 $\alpha$  en pony preñados, provocó el aborto durante el primer tercio de la gestación; sin embargo múltiples tratamientos con PGF2 $\alpha$  fueron requeridos para inducir el aborto durante el segundo trimestre (W van Leewen. *et al.*, 1983).

La dosis de prostaglandina que no induce una luteólisis completa provocará reducción temporal de la función lútea, lo que se juzga por las concentraciones sanguíneas de progesterona. Los efectos colaterales inmediatos de la sobredosificación con PGF<sub>2</sub>α y sus análogos se han documentado ampliamente e incluyen: sudoración, hiperglucemia, incoordinación locomotora, hipertermia, disnea e hipermotilidad gástrica (Nelly *et al.*, 1990).

La duración del pico de prostaglandina es de 1 a 4 días, y con su primera elevación inicia la luteólisis, apareciendo a las 3 a 5 horas siguientes un descanso marcado en la concentración de progesterona. Una liberación mayor de PGF<sub>2</sub>α ocurre luego de que la luteólisis ha comenzado, con el propósito teórico de asegurar una luteólisis completa. Aproximadamente el periodo de duración de la luteólisis es de 40 horas (Hafez, 2000).

Douglas *et. al.*, (1974) reportaron que el total de 13 ponys hembras abortaron, cuando se les administró una inyección con 2.5 mg de PGF<sub>2</sub>α cuando se les dosificó a intervalos de 12 horas a cada una. Sin embargo, una inyección de 2.5 mg administrada en el día 100 a 150 provocó aborto en tan solo 5 de las yeguas (Douglas *et. al.*, 1974), pero el tratamiento de las yeguas gestantes con una sola inyección con 1.25 mg de PGF<sub>2</sub>α en el día 32 resultó con término de la preñez en cada una de las 4 yeguas (Kooistra y Ginther, 1976) (Squires *et al.*, 1980; Kooistra *et al.*, 1976).

El objetivo del presente trabajo de investigación es comparar la resistencia del efecto luteolítico de la PGF<sub>2</sub>α en yeguas gestantes con embrión caballo y yeguas gestantes con embrión mula, así como comparar las concentraciones en los niveles hormonales de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, antes y después de la aplicación de la PGF<sub>2</sub>α. Se comparó la incidencia de abortos en los grupos experimentales de yeguas gestantes con embrión caballo y yeguas gestantes con embrión mula, después de la administración de una sola dosis de PGF<sub>2</sub>α natural (5 mg de Lutalyse) en el día 90 de la gestación que normalmente no causa el aborto en ésta etapa de la gestación cuando se aplica a yeguas gestantes con embrión de caballo.

## II REVISIÓN DE LITERATURA

### 1. Control Endócrino de la Reproducción en la Yegua

La yegua es una especie que solo muestra estros o receptividad sexual durante la época de la primavera y verano (Bokor *et al.*, 2003) en donde los días tiene mayor cantidad de horas luz y disminuye cuando la cantidad de horas luz es menor (Donadeu *et al.*, 2007), es decir, es una especie poliéstrica estacional; estos meses son de Marzo a Noviembre, pero cada una tiene variaciones dentro de su ciclo (Kooistra *et al.*, 1975). Durante la temporada reproductiva, la yegua muestra una serie de estros espontáneos con intervalos regulares. Los ciclos estrales en la yegua comienzan en la pubertad y tiene una duración de 21 días (pudiendo prolongarse hasta 24 días) (Purohit *et al.*, 1999). Cada uno de estos ciclos es un patrón de eventos tanto fisiológicos como de comportamiento, controlados hormonalmente y divididos en dos periodos: el estro en la cual la yegua muestra gran receptividad sexual, durante 4-5 días y el diestro en el cual la yegua cesa su comportamiento receptivo el cual dura aproximadamente 16 días (cada yegua tiene variaciones en los días). El estro se ve afectado por la etapa temporada reproductiva (Mina *et al.*, 1993).

Tradicionalmente se sostenía que el control del ciclo estral era efectuado exclusivamente como función endócrina, mediante hormonas hipofisarias (Nelly *et al.*, 1990), excretándose en la circulación para estimular los ovarios. En la actualidad, nuevos estudios han demostrado que la hipófisis está controlada por señales originadas en el cerebro y el medio ambiente (Ball, 2005).

El comienzo de la etapa reproductiva sucede cuando las horas luz son suficientes para suprimir el reflejo inhibitorio producido por la melatonina sobre la liberación de GnRH (Tortonese *et al.*, 2001). Los primeros ciclos del año suelen ser irregulares, adquiriendo más regularidad en cuanto a duración, a medida que avanza la estación reproductiva. La liberación de GnRH es continua con pulsos adicionales cada 2 horas en diestro y dos pulsos cada hora en estro. En la yegua puede ocurrir una o dos ondas foliculares mayores por ciclo estral ya que las concentraciones de FSH puede ser secretada siguiendo un patrón uni o bimodal.

Cuando es secretada por un patrón bimodal presenta aumento plasmático del día 3 al 5 y un segundo aumento entre los días 11 a 13 del ciclo. Más entrada la etapa reproductiva, la FSH puede tener un patrón de secreción unimodal, aumentando solamente una sola vez por ciclo. A diferencia de la transición, en la temporada reproductiva sólo ocurren ondas foliculares mayores, ya que siempre se produce un folículo dominante. Según el momento del ciclo en que se producen las ondas foliculares, se subclasifican en onda mayor primaria y onda mayor secundaria. Se define como onda mayor primaria el grupo de folículos que darán origen a la ovulación estral. La ovulación ocurre entre 24-48 horas antes de que finalice el estro. La onda mayor secundaria es la activación y diferenciación de folículos terciarios cuyo folículo dominante adquiere su mayor tamaño durante el diestro. Comienza a observarse ecográficamente al final del estro del ciclo anterior. La onda mayor secundaria varía su incidencia según la raza y en general se observa con mayor frecuencia al comienzo de la etapa reproductiva anual, ya que la FSH no siempre tiene una modalidad de secreción bimodal. La yegua es una de las especies domésticas que puede ovular con concentraciones altas de progesterona. Por lo tanto, a diferencia de otras especies, el folículo dominante de la onda mayor secundaria puede llegar a ovular (ovulación diestral). Si esta ovulación ocurre alrededor del día 10 del ciclo, al producirse la liberación del endometrio de PGF2 $\alpha$ , se producirá la lisis del cuerpo lúteo diestral al mismo tiempo que el cuerpo lúteo primario. En cambio si la ovulación diestral ocurre más tardíamente no podrá responder a la liberación de PGF2 $\alpha$  y persistirá alargando la duración normal del diestro, formando un cuerpo lúteo persistente (Gigli *et al.*, 2006).

### **1.1 Control Endócrino del Ciclo Estral.**

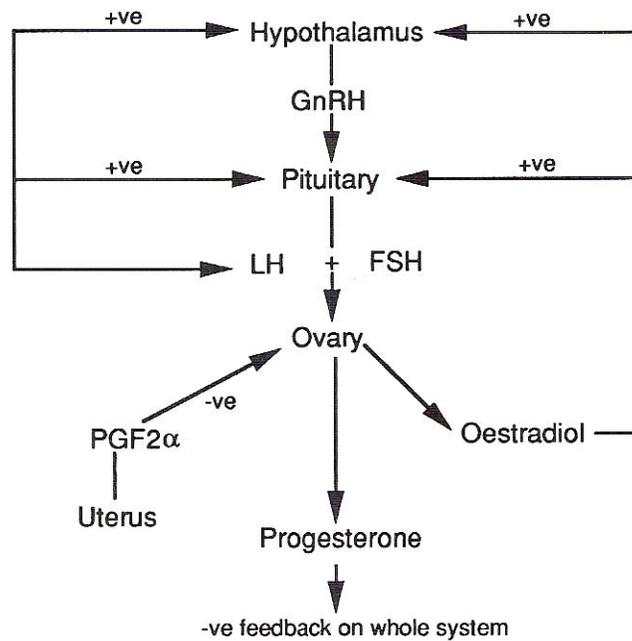
El control endócrino del ciclo estral de la yegua está gobernado por el eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Mina *et al.*, 1993).

La luz es un estímulo externo que puede afectar los ovarios por medio de mecanismos neuroendócrinos (Nequin *et al.*, 1990). Los conocimientos actuales indican que aumentando la duración de la exposición a la luz, la retina del ojo

inicia un estímulo nervioso, que es transmitido vía nervio óptico, pero separado de las fibras comunes de la visión. Este estímulo nervioso atraviesa el ganglio cervical superior y llega a la epífisis (glándula pineal). Esta se ubica profundamente entre los 2 hemisferios cerebrales y actúa como un transformador que convierte el impulso nervioso que ingresa, en una descarga hormonal. La hormona epifisaria (melanotonina) (Guillaume *et al.*, 1991), ejerce un efecto depresivo o antigonal sobre los ovarios. La tasa de síntesis o liberación de esta hormona parece estar relacionada en forma inversa con la duración de las horas luz. Esto es, que aumentando la cantidad de horas luz (Amir *et al.*, 1985), resulta en una disminución de la liberación de melanotonina, y viceversa. La melanotonina exógena ha demostrado reprimir la cantidad de GnRH en el hipotálamo de la yegua. También se demostró que la glándula pineal de la yegua produce más cantidad de melanotonina durante los meses de invierno, que es cuando la cantidad de horas luz es menor (Nelly *et al.*, 1990).

Las principales hormonas que participan en el ciclo estral de la yegua son la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) (Zelli *et al.*, 2006), que actúa sobre la hipófisis anterior para estimular la liberación de la hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH). Esta hormona promueve a su vez el desarrollo folicular y la secreción de estrógenos (Zarco y Boeta, 2000).

Conforme aumentan los días largos en la yegua, la pituitaria produce una mayor cantidad de LH y FSH. La liberación de la LH es de forma pulsátil (Evans *et al.*, 1979) y su frecuencia se aumenta desde 0.38 hasta 4.74 pulsos/día en el momento en que las yeguas finalizan su anestro y hasta su primera ovulación (Mina *et al.*, 1993).



**FIG 1.** Eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónada y su distribución en la yegua (Mina *et al.*, 1993).

Cuando la yegua se encuentra en días con gran cantidad de horas luz, produce liberación de GnRH. Esta liberación se da de forma pulsátil y pasa directamente al sistema porta, pasando directamente a la pituitaria anterior. En respuesta a la producción de GnRH, se producen gonadotropinas: LH (Hormona Luteinizante) y FSH (Hormona Foliculo Estimulante), para llegar a su órgano blanco que en este caso es el ovario (Samper *et al.*, 2007).

Aunque los cambios fisiológicos que ocurren en la transición de otoño no están tan definidos como en el resto de las etapas anuales, se puede afirmar que durante el otoño ocurren cambios paulatinos que van a terminar temporalmente con la activación de folículos antrales y el mecanismo de la ovulación. Irvine *et al.* (2000) observaron que la FSH vuelve a tener un patrón bimodal de secreción como en el inicio de la temporada reproductiva con un pulso cada dos días. Las concentraciones séricas de la LH disminuyen más rápidamente luego de su aumento pre-ovulatorio y finalmente no logra alcanzar los niveles necesarios para desencadenar la ovulación (Gigli *et al.*, 2006).

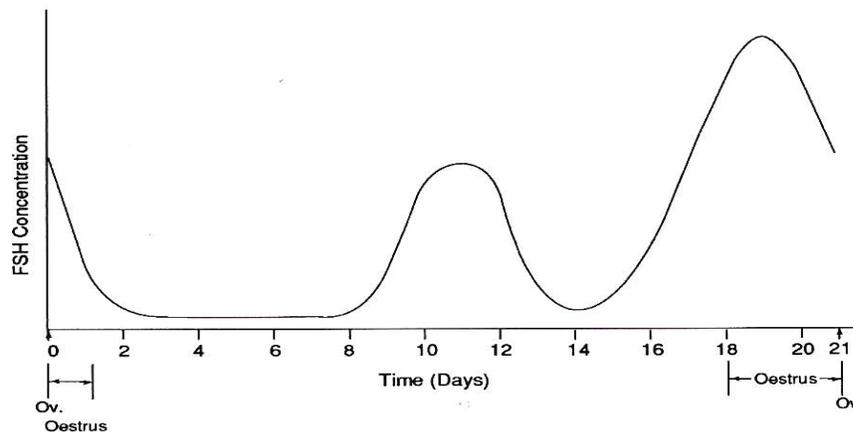
### **1.1.1 Hormona Folículo Estimulante y Hormona Luteinizante.**

La hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) son glicoproteínas producidas por la hipófisis (Dalpathado *et al.*, 2006), están formadas por las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ . La subunidad  $\alpha$  es específica de especie; la subunidad  $\beta$  determina la función biológica de cada hormona (Samper *et al.*, 2007).

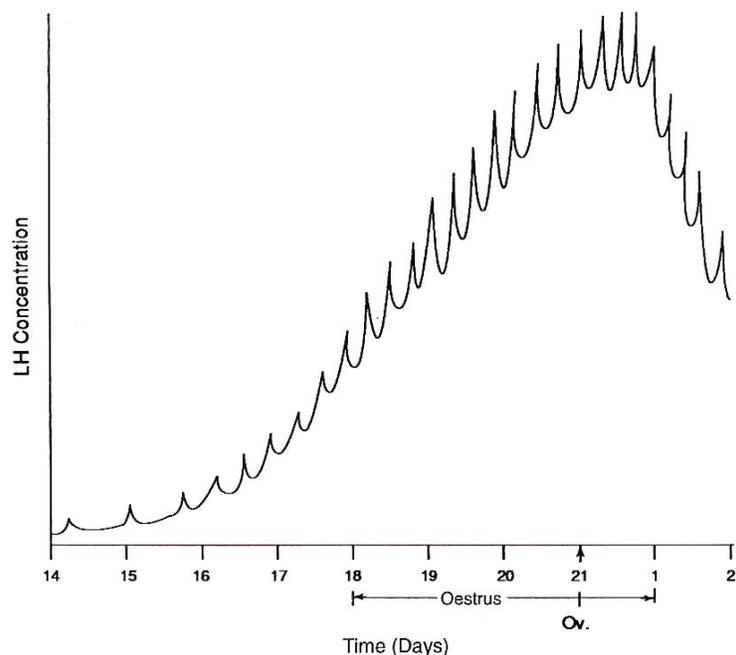
La FSH es la responsable del desarrollo del folículo (Mc Cue *et al.*, 2007). Pasa a través del sistema circulatorio de la yegua y alcanza concentraciones desde 4 ng/ml hasta llegar a alcanzar los 9 ng/ml (Bearden *et al.*, 1995). Esta hormona es la responsable del crecimiento de los folículos antrales. El 93% de las veces, el primer folículo en aparecer con un tamaño de 20 mm de diámetro, se convierte en el folículo dominante (Ball, 2005). Las células de la teca interna de los folículos terciarios responden al estímulo de la FSH produciendo andrógenos y estimulando la acción de la enzima aromatasa en las células de la granulosa y transformando a los andrógenos en estradiol. Bajo la influencia de la FSH, las células de la granulosa se dividen por mitosis, incrementando las capas que rodean al ovocito I y aumentando el tamaño folicular. La FSH junto con el estradiol estimula la formación de la cavidad antral y la expresión de receptores para LH en las células de la granulosa del folículo preovulatorio. La FSH también cumple un rol en el proceso de la ovulación al estimular la secreción del activador del plasminógeno por parte de las células de la granulosa (Gigli *et al.*, 2006). Se ha establecido que conforme va creciendo el folículo las concentraciones de esteroides del fluido folicular cambian, y en la esteroidogénesis de las células de la granulosa existe expresión enzimática durante la fase folicular (Belin *et al.*, 2000).

Las concentraciones tónicas de LH y FSH son controladas por retroalimentación negativa desde las gónadas. La concentración tónica de la LH en la sangre no es estable, sino que muestra oscilaciones más o menos cada hora. Conforme avanza el ciclo estral de la yegua se va secretando cada vez mayor cantidad de FSH, lo que hace que los folículos crezcan cada día en la yegua aproximadamente 5 mm. Conforme se va acercando el día de la ovulación comienza a secretarse más frecuentemente la LH para que el folículo ovule (Ginther *et al.*, 2004). Este mensaje de la ovulación es secretado por la pituitaria,

incrementándose la amplitud de los impulsos (Fitzgerald *et al.*, 1985). Los receptores de la Hormona Luteinizante se encuentran en las células de la teca. Los niveles de la LH comienzan a elevarse (Pattison *et al.*, 1974) desde niveles basales <3 ng/ml con una frecuencia pulsátil de 1.4 pulsos/24 horas durante varios días hasta finalizar el estro. Después de la ovulación se han reportado niveles que alcanzan los 10-16 ng/ml (Bearden *et al.*, 1995). La función de la LH es reiniciar la meiosis en el folículo preovulatorio, desencadenar la ovulación y controlar el desarrollo y mantenimiento del cuerpo lúteo. Ejerce su acción uniéndose a receptores de membranas en las células de la granulosa y teca del folículo preovulatorio. Produce un aumento del AMPc vía adenil ciclasa, estimulando la conversión de colesterol en pregnenolona y desencadenando los sucesos de la ovulación (Gigli *et al.*, 2006).



**FIG 2.** Variaciones en las concentraciones plasmáticas de la Hormona Folículo Estimulante en la yegua no gestante (Mina *et al.*, 1993).

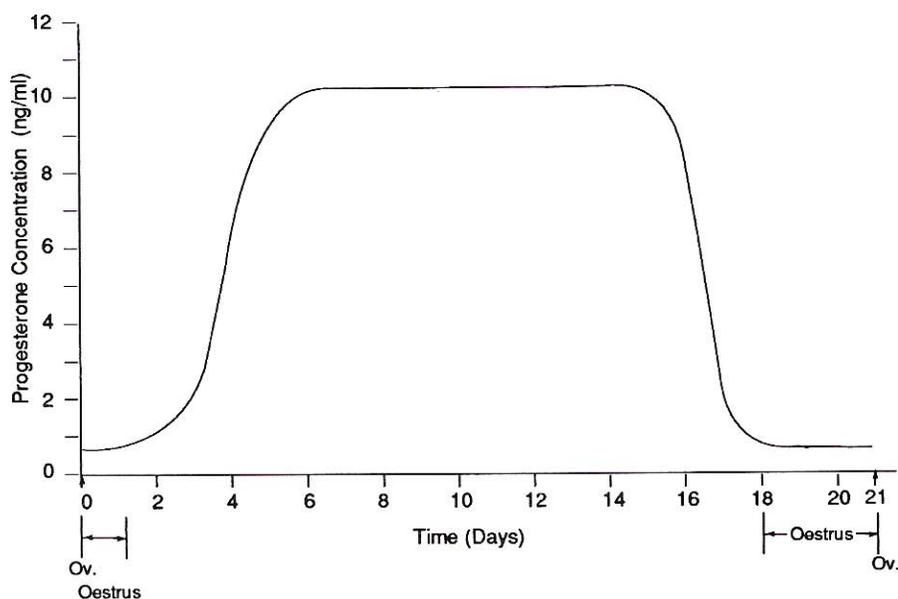


**FIG 3.** Variaciones en las concentraciones plasmáticas de la Hormona Luteinizante en la yegua no gestante (Mina *et al.*, 1993).

### 1.1.2 Progesterona.

Con la ovulación del folículo, se forma el cuerpo lúteo debido a que el lumen del folículo fue lisado y el fluido folicular fue liberado. El tejido lúteo secreta progesterona, la cual regula la vida media del cuerpo lúteo (Oxender *et al.*, 1974). Los niveles de la P<sub>4</sub> (Progesterona), comienzan a elevarse 24-48 horas posteriores a la ovulación del folículo. Las concentraciones máximas (10 ng/ml) se alcanzan 5-6 días después de la ovulación y estos niveles son mantenidos hasta el día 15-16 del ciclo estral. Si la yegua no queda gestante, los niveles de progesterona disminuyen drásticamente (Ginther *et al.*, 2007) 3-4 días antes de presentar el siguiente ciclo estral, esto por acción de la PGF<sub>2</sub>α (Mina *et al.*, 1993); ésta liberación reduce los niveles de P<sub>4</sub> (Acosta *et al.*, 2007) durante las siguientes 3-4 horas (Handler *et al.*, 2004). La vida media del cuerpo lúteo primario es sostenida por la regulación de los receptores de oxitocina en el endometrio, para prevenir la luteólisis y la consiguiente disminución en los niveles de progesterona (Allen *et al.*, 1974); alrededor del día 40 de la gestación se forman los cuerpos lúteos secundarios los cuales se desarrollan como resultado por acción de liberación de

gonadotropinas de la pituitaria (FSH) y gonadotropina coriónica equina (eCG). Alrededor del día 100 de la gestación, el corionalantoideo secreta gran cantidad de progesterona y progestágenos directamente del endometrio , y en la última semana de la gestación, las glándulas adrenales del feto, secretan grandes cantidades de pregnenolona las cuales son utilizadas por la placenta para sintetizar progestágenos (Allen, 2001).

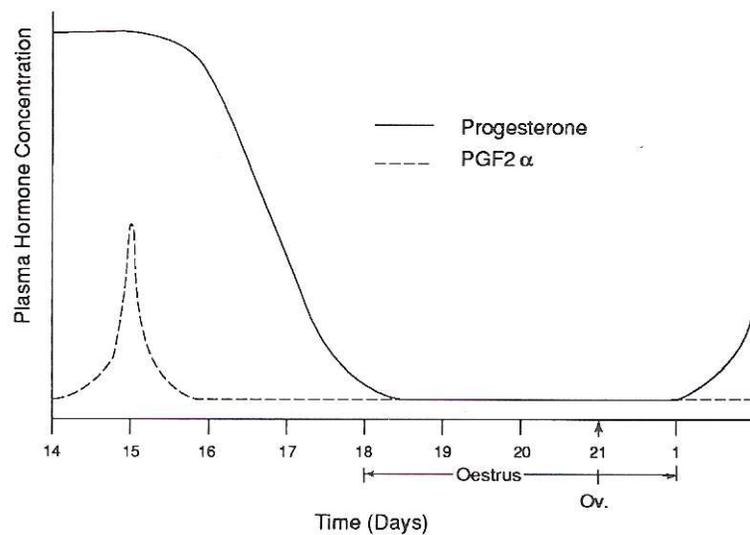


**FIG 4.** Variaciones en las concentraciones plasmáticas de la Progesterona en la yegua no gestante (Mina *et al.*, 1993).

### 1.1.3 Prostaglandina F2 $\alpha$ .

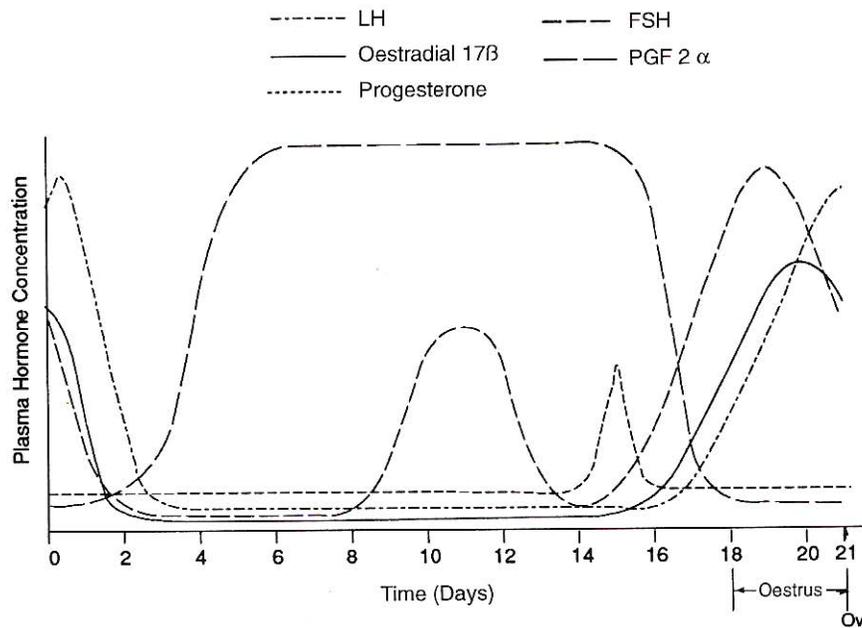
Esta hormona es ampliamente utilizada como una herramienta para el control biotecnológico en las funciones reproductivas y terapéuticas en la yegua, así como en otras especies. Su efecto luteolítico (Daels *et al.*, 1996) es utilizado durante la etapa del diestro y así poder acortar el intervalo entre estros y ovulaciones (Martin *et al.*, 1981). Se ha establecido que la administración de 5 mg de PGF2 $\alpha$  administrada intramuscularmente durante la fase lútea, induce el retorno al estro (Kaneko *et al.*, 1995). Ha sido bien estudiado que con dosis subterapéuticas se puede terminar con la gestación en etapas tempranas de la gestación (Wustenhagen *et al.*, 2002); inclusive se ha establecido que a dosis de 0.5 mg

administrada por la técnica de acupuntura en el espacio sacro-lumbar de la yegua, es igualmente efectiva para inducir luteolisis en la segunda fase luteal (Alvarenga *et al.*, 1998). La PGF<sub>2</sub> $\alpha$  es difícil medirla en el sistema circulatorio debido a que tiene una vida media muy corta y su liberación es de forma pulsátil. Esta hormona se eleva entre el día 14 y 17 después de de que haya ocurrido la ovulación (Neely *et al.*, 1979); sin embargo, los metabolitos de la prostaglandina tienen una vida media más larga y son mucho más fáciles de medir en la circulación. Es bien sabido que la prostaglandina se libera del endometrio de la yegua provocando regresión del cuerpo lúteo, haciendo niveles de la P<sub>4</sub> disminuyan (Alcántara *et al.*, 2005). En el caso de la yegua, su arteria ovárica no está en contacto con la vena uterina como en el caso de la vaca, por lo que la prostaglandina tiene que recorrer por todo el sistema circulatorio para ser degradada (Wüstenhagen *et al.*, 2002). Desde hace mucho tiempo se ha establecido el poder luteolítico de la prostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$ , ya que antes de aplicarla intramuscularmente en yeguas, se han encontrado valores de 13.6 ng/ml y 12-24 horas posteriores a su aplicación los valores han descendido hasta por 1 ng/ml (Enbergs *et al.*, 1978).



**FIG 5.** Variaciones en las concentraciones plasmáticas de la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  y P<sub>4</sub> en la yegua no gestante (Mina *et al.*, 1993).

En el siguiente cuadro observamos en los niveles de hormonas que participan durante un ciclo estral en la yegua:



**FIG 6.** Resumen de la concentración de hormonas plasmáticas y sus cambios durante el ciclo estral en la yegua no gestante (Mina *et al.*, 1993).

## 2. Biosíntesis y Metabolismo de la PFG2α

La PGF<sub>2</sub>α pertenece a la familia de ácidos grasos de 20 carbonos, ésta se deriva del ácido araquidónico que se libera por la ruptura de las membranas de los fosfolípidos en muchas células como respuesta a estímulos, endócrinos, neurales y físicos. La hidrólisis de la membrana de los fosfolípidos, resulta en la liberación del ácido araquidónico, la cual es una reacción enzimática mediada por la fosfolipasa A. El ácido araquidónico libre es el precursor de las prostaglandinas y tromboxanos, sintetizado vía ciclo-oxigenasa y leucotrienos. La prostaglandin sintetasa es el complejo enzimal microsomal el cual convierte el ácido araquidónico a prostaglandina. En la primera etapa, el ácido araquidónico es convertido a endoperóxido PGG<sub>2</sub> vía ciclo-oxigenasa. El prostaglandin G<sub>2</sub> luego es convertido a PGH<sub>2</sub> por la peroxidasa. Subsecuentemente, la PGH<sub>2</sub> es reducida a

PGF<sub>2</sub>α por la enzima PG-endoperóxido reductasa o convertida u otros derivados de prostaglandinas como tromboxanos, prostaciclín y PGE<sub>2</sub> (Daels *et al.*, 1989).

Las prostaglandinas endógenas y los tromboxanos son rápidamente metabolizados, principalmente en los pulmones, hígado y riñones y en su sitio de producción. Como es conocido, en todas las especies la PGF<sub>2</sub>α es metabolizada primero en 15-ceto-PGF<sub>2</sub>α. En la yegua, el primer metabolito en el plasma es la 15-cetodihidro-PGF<sub>2</sub>α, la cual tiene una vida media aproximadamente en el plasma de 5 minutos y después se degrada a metabolitos de 11-cetotetrano PGF; estos metabolitos tienen una vida media plasmática de aproximadamente 1.5 horas. En el plasma, la concentración basal de los metabolitos de 11-cetotetrano PGF es aproximadamente 10 veces mayor que los de la 15-cetodihidro PGF<sub>2</sub>α. En la orina, la concentración basal de la 15-cetodihidro PGF<sub>2</sub>α y de los metabolitos de la 11-cetotetrano PGF son alrededor de 50 a 200 veces más altas respectivamente, que en el plasma (Silver *et al.*, 1979). En una etapa tardía en la gestación en la yegua el metabolismo de la PGF<sub>2</sub>α es diferente tanto en el compartimiento materno como en el fetal, ya que la vida media de la PGF<sub>2</sub>α puede ser mayor en el compartimiento fetal que en el materno. En el plasma fetal, las concentraciones de la PGF<sub>2</sub>α son menores comparadas en las que se encuentran en el compartimiento plasmático materno (Daels *et al.*, 1989).

Las propiedades abortivas de la prostaglandina fueron inicialmente demostradas con diferentes especies animales de laboratorio, en donde las gestaciones se perdían al 100% en ratas cuando se les administraba 3 inyecciones diarias de PGF<sub>2</sub>α (Douglas *et al.*, 1974). En la yegua no gestante, las prostaglandinas son secretadas desde el endometrio alrededor del día 14 ó 15 del ciclo estral (Wüstenhagen *et al.*, 2002).

Después de una sola inyección de PGF<sub>2</sub>α, durante la mitad de la gestación en la yegua, los niveles de progesterona circulante disminuyeron a niveles basales después de 36 horas. Otros estudios en especies no equinas, indican que la luteólisis está asociada con una reducción en el flujo sanguíneo lúteo. En yeguas, las concentraciones de progesterona y el flujo sanguíneo ovárico están relacionados (Ginther *et al.*, 2007).

## **2.1 Rol de la PGF<sub>2</sub>α en el ciclo reproductivo de la yegua.**

La PGF<sub>2</sub>α es un agente luteolítico que desencadena el término de la gestación en yeguas que tienen más de 40 días de gestación (Daels *et al.*, 1995). En yeguas no gestantes, la vida media del cuerpo lúteo es controlada por la liberación de la PGF<sub>2</sub>α del endometrio entre el día 13 y 16 post-ovulación. La luteólisis funcional (disminución de la secreción de la progesterona) ocurre por arriba de las 40 horas. La primera liberación de la PGF<sub>2</sub>α precede la primera disminución en las concentraciones de progesterona aproximadamente 3-4 horas las cuales son seguidas de una mayor liberación de prostaglandina durante la luteólisis (Daels *et al.*, 1989). En la yegua gestante, el embrión tiene gran movilidad entre el día 11 y 14 post-ovulación, esto con la finalidad de asegurar la distribución de la sustancia antiluteolítica en todo el endometrio y así evitar la liberación endometrial de la PGF<sub>2</sub>α y asegurar la luteostasis necesaria para el mantenimiento de la gestación. Más aún el embrión comienza a secretar una prostaglandina llamada PGE<sub>2</sub> desde el día 5 post-ovulación con la finalidad de relajar las fibras circulares musculares del oviducto y el embrión pueda pasar al útero atravesando la papila útero-tubal (Stout y Allen, 2001).

En la yegua gestante, la presencia de la concepción alarga la vida media del cuerpo lúteo, permitiendo que siga existiendo un soporte progestacional y así continúe la gestación. Generalmente se ha aceptado que el reconocimiento de la gestación se efectúa en los días 14-16 post-ovulación; sin embargo, recientes observaciones han sugerido que el embrión tiene un efecto luteostático entre los días 11 y 13 post-ovulación. Bazer y Thatcher (1977), han propuesto que la liberación de la prostaglandina en animales gestantes es redirigida hacia el lumen uterino (secreción exógena) seguidos 14 días post-ovulación. Sin embargo, esto no se ha confirmado para la yegua, aunque sabemos que las concentraciones intraluminales de PGF<sub>2</sub>α son disminuidas alrededor de día 14 post-ovulación en yeguas ponies gestantes. La secreción pulsátil de la PGF<sub>2</sub>α, la cual es normalmente observada en yeguas no gestantes está ausente durante la gestación. Varios autores han determinado que la alta afinidad que tiene la PGF<sub>2</sub>α

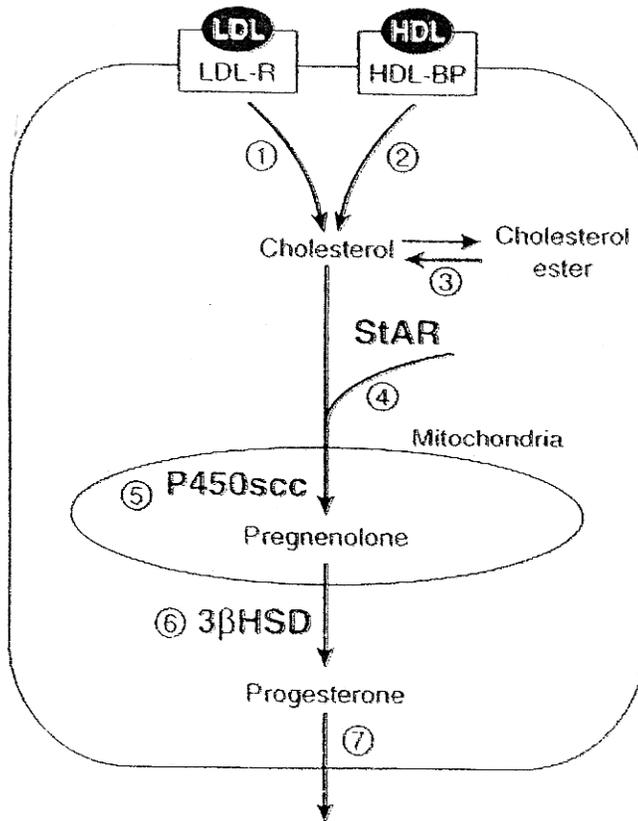
por el cuerpo lúteo es similar tanto en yeguas gestantes como en yeguas no gestantes en el día 12 post-ovulación y mucho mayor en yeguas gestantes entre el día 16 y 18 post-ovulación (Daels *et al.*, 1989).

Existe un aumento en la producción de prostaglandinas en el último trimestre de la gestación de la yegua. Se han reportado altas concentraciones de 15-cetodihidro PGF<sub>2</sub>α (2-10 ng/ml) en los 10 días posteriores al parto. Aproximadamente 2 horas antes de la liberación de la 15-cetodihidro PGF<sub>2</sub>α las concentraciones comienzan a elevarse (aproximadamente 150 ng/ml). Después de la liberación las concentraciones comienzan rápidamente a disminuir alrededor de 0.2 ng/ml (Stewart *et al.*, 1984).

### **3. Desarrollo del Cuerpo Lúteo.**

Las células de la granulosa y de la teca que están en el folículo, producen estrógenos de manera coordinada. Las células de la teca expresan las enzimas necesarias para convertir el colesterol en andrógenos, pero carece de las enzimas necesarias para convertir los andrógenos en estradiol. Por el contrario, las células de la granulosa producen progesterona pero son incapaces de convertir la pregnenolona o la progesterona en andrógenos. Por ello, los andrógenos producidos en la teca son aromatizados a estradiol por las células de la granulosa. La oleada preovulatoria de LH provoca luteinización de las células de la granulosa y la teca y altera la vía esteroidogénica, de modo que después de la luteinización, la progesterona es la principal hormona esteroide producida por cada uno de esos tipos celulares. La síntesis de progesterona es la vía esteroidogénica más compleja en el ovario (Niswender *et al.*, 2000).

A las 10-12 horas posteriores a la ovulación, el cuerpo lúteo de la yegua ya produce altas concentraciones de progesterona. Esto es debido a la alta concentración sérica de LH postovulación. La LH actúa manteniendo la funcionalidad del cuerpo lúteo (Gigli *et al.*, 2006).



**FIG 7.** Vía de la biosíntesis de la progesterona en una célula lútea. Tres fuentes de colesterol se pueden utilizar como sustrato: 1) lipoproteína de baja densidad (LDL), 2) lipoproteína de alta densidad (HDL), ó 3) hidrólisis de ésteres de colesterol almacenadas por la colesterol esterasa. El colesterol libre es transportado a la mitocondria aparentemente con involucramiento de citoesqueleto. El colesterol es entonces transportado a la membrana mitocondrial exterior a la interior. (4), lo cual parece involucrar a la proteína reguladora aguda esteroideogénica (StAR). El colesterol se convierte en pregnenolona por la enzima *P-450* side-chain cleavage (*P-450<sub>scc</sub>*); 5), transportada fuera de la mitocondria, y convertida a progesterona por la 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa/ $\Delta^5$ ,  $\Delta^4$  isomerasa (3β-HSD;6); la cual está presente en el retículo endoplásmico liso. La progesterona parece difundirse a partir de la célula lútea (Niswender *et al.*, 2000).

La diferenciación en células capaces de producir progesterona en altas proporciones se acompaña por un aumento en la expresión de las enzimas necesarias para la conversión de colesterol a progesterona, por ejemplo el complejo citocromo *P-450* de segmentación de la cadena lateral de colesterol – side-chain cleavage- (*P-450<sub>scc</sub>*) y la 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa /  $\Delta^5$ ,  $\Delta^4$  isomerasa (3β-HSD), y en la disminución en la expresión de las enzimas que

convierten la progesterona a estrógenos, por ejemplo el citocromo *P-450* 17 $\alpha$ -hidroxilasa y la citocromo *P-450* aromatasa (Niswender *et al.*, 2000).

Las células luteales derivadas de la teca y de la granulosa dan origen a dos tipos distintos de células que difieren morfológica y fisiológicamente (Levine *et al.*, 1979). En la mayoría de los mamíferos no primates las células derivadas principalmente de células de la granulosa han sido designadas como células lúteas grandes (LLC), y las de las células tecales han sido designadas como células luteales pequeñas (SLC). Además de las células esteroideogénicas, el cuerpo lúteo contiene células endoteliales, fibroblastos, pericitos y células de origen sanguíneo. Las células lutein-granulosas permanecen separadas de las células lutein-tecales, y algunas de las membranas foliculares basales parecen permanecer, formando una barrera entre las células lutein-granulosa y lutein-tecales. En contraste, el tejido folicular se reorganiza extensamente durante la migración de las células tecales, fibroblastos y células endoteliales durante el desarrollo del cuerpo lúteo de la mayoría de los mamíferos no primates. En estas especies las células del cuerpo lúteo están inter cruzadas, de manera que las LLC; SLC, fibroblastos y células endoteliales están en gran proximidad una con otra (Samper *et al.*, 2007).

La proliferación de células endoteliales es un requisito para la neurovascularización durante el desarrollo lúteo, lo que provoca la extensa red capilar del cuerpo lúteo. La lúmina vascular es el 22% del volumen total del cuerpo lúteo, lo cual es consistente con la tasa de flujo sanguíneo (6-10 ml.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) al cuerpo lúteo que excede la de otros tejidos. Además, la mayoría de las membranas de las células luteales están directamente adyacentes a los capilares (59%) o al espacio intersticial (37%), en proximidad cercana a los capilares (Mina *et al.*, 1993).

## 4. Vía Esteroidogénica Lútea

### 4.1 Substratos Esteroidogénicos.

El substrato para la esteroidogénesis es el colesterol. Bajo condiciones normales, la mayoría del colesterol se sintetiza en el hígado y es transportado a órganos esteroidogénicos (corteza adrenal, folículo, cuerpo lúteo y testículos) en forma de lipoproteínas. Las lipoproteínas de baja y alta densidad (LDL y HDL), son las fuentes más comunes de colesterol utilizadas en la producción de hormonas esteroides en el cuerpo lúteo. Parecen existir algunas diferencias de especie en su preferencia para LDL o HDL, pero las células luteales de la mayoría de las especies pueden utilizar cualquiera. La absorción de las LDL en las células luteales ocurre por endocitosis mediada por receptores. Esta vía es eficiente, ya que cada molécula de LDL contiene al menos 2,500 moléculas de colesterol. Una vez internalizadas, los endosomas se combinan con lisosomas, donde la LDL se disocia de su receptor y es degradado, dejando colesterol libre disponible para cada célula. El receptor de la LDL se recicla o se degrada. La absorción de las HDL extracelulares se presenta después de unirse a una proteína de unión de HDL unida a una membrana plasmática, y el colesterol se transporta al interior de la célula por un mecanismo no definido que no parece ser la endocitosis mediada por receptores. Una vez que el colesterol libre está en el citosol de la célula, puede usarse para la esteroidogénesis o para la formación de membranas celulares, o puede ser esterificado con ácidos grasos para formar ésteres de colesterol, por la enzima colesterol ester sintetasa y ser almacenado. Los ésteres de colesterol con frecuencia forman gotas de lípidos que han sido referidos como una característica morfológica de los tipos celulares esteroidogénicos. La enzima colesterol esterasa hidroliza los ésteres de colesterol almacenados y los deja libres para uso de la célula. Este es uno de los pasos en la esteroidogénesis que está controlado de manera precisa por vías de segundo mensajero. La enzima colesterol esterasa es activada cuando es fosforilada por la proteína cinasa A (PKA) (Niswender *et al.*, 2000).

## **4.2 Transporte de Colesterol.**

La síntesis de todos los esteroides depende del transporte del colesterol a la mitocondria y después, de la membrana mitocondrial exterior a la interior, donde el complejo enzimático colesterol scc, segmenta la cadena lateral del colesterol para formar pregnenolona (Boerboom *et al.*, 2001). El primer paso en este proceso (el transporte de la membrana mitocondrial externa), parece requerir un citoesqueleto intacto, ya que los inhibidores del funcionamiento de los microtúbulos y microfilamentos evitan la acumulación de colesterol en la mitocondria. El estado de fosforilación de las proteínas citoesqueléticas probablemente influencia la tasa de transporte de esterol. Las proteínas de unión de esterol también parecen jugar un papel importante en el transporte del colesterol a la mitocondria. La estimulación de la esteroidogénesis por hormonas trópicas mejora el transporte del colesterol a la mitocondria. A sido bien estudiado en ratas el caso de los ovarios, ya que la mitocondria de los ovarios convierte la 3H-25-hidroxicoolesterol a pregnenolona y luego a progesterona (Toaff *et al.*, 1982). El paso limitante en la vía esteroidogénica parece ser el transporte del colesterol de la membrana mitocondrial externa a la interna. Este paso también parece ser el sitio principal de regulación positiva y negativa de la esteroidogénesis, por sistemas de segundos mensajeros. Se ha demostrado anteriormente que la estimulación de la vía esteroidogénica por las hormonas trópicas, requiere la síntesis de una proteína de vida corta (Niswender *et al.*, 2000).

## **4.3 Conversión de Colesterol a Pregnenolona.**

Una vez transportado a la matriz mitocondrial, las acciones de la  $P-450_{scc}$ , la adrenodoxina y la adrenodoxina reductasa dividen la cadena lateral del colesterol para formar pregnenolona. La pregnenolona entonces se transporta al retículo endoplásmico liso, donde la  $3\beta$ -HSD convierte la pregnenolona a progesterona. Aunque la progesterona es la principal hormona esteroide secretada por el cuerpo lúteo, dependiendo de las especies y el estado reproductivo se pueden secretar esteroides adicionales en cantidades significativas (Rodger *et al.*, 1998). La pregnenolona  $P_5$  son metabolitos que se encuentran presentes en el plasma

sanguíneo de yeguas gestantes (Ousey *et al.*, 2005); sin embargo actualmente es muy poco lo que se ha investigado a cerca de la ontogenia, distribución y porcentajes de la producción de progestágenos útero-placentales en la yegua gestante así como su duración durante la segunda etapa de la gestación (Ousey *et al.*, 2003). Este precursor de la progesterona, la pregnenolona ( $P_5$ ), es producido por el feto y rápidamente metabolizado por la placenta y el endometrio a  $P_4$  y otros metabolitos como  $5\alpha$ -pregnano-3,20-diona ( $5\alpha$ -DHP); este metabolito entra de nueva cuenta a la circulación y es metabolizado tanto por la placenta como por el feto y es excretado dentro de la circulación materna (Ousey *et al.*, 2001).

#### **4.4 Regulación Trópica de la Función Lútea.**

Las hormonas luteotrópicas son las que sostienen el crecimiento y/o funcionamiento del cuerpo lúteo. Durante una fase lútea normal, el cuerpo lúteo aumenta su tamaño y su capacidad de secretar progesterona (Ferreira-Dias *et al.*, 2007). Una vez que el cuerpo lúteo ha alcanzado su tamaño maduro y su máximo potencial de secreción de progesterona, la función lútea se mantiene cierto tiempo dependiendo de la especie y si el animal no queda gestante, debe darse una regresión lútea para permitir la nueva ovulación y que se presente otra oportunidad para una nueva gestación (Ginther *et al.*, 2006).

La concentración de progesterona sérica depende de la cantidad de tejido esteroideogénico, de su capacidad de secretar progesterona y el flujo sanguíneo. La cantidad de tejido esteroideogénico depende del número, así como el tamaño de las células esteroideogénicas luteales, las cuales, ambas, aumentan durante el desarrollo luteal. El flujo sanguíneo al cuerpo lúteo aumenta también conforme aumenta la concentración de progesterona. Los aumentos en la concentración de progesterona sérica están asociados también con cambios en las concentraciones de componentes codificadores de  $RNA_m$  de la vía esteroideogénica y/o regulatoria luteal. Es importante indicar que la cantidad de cada una de las especies de  $RNA_m$  dentro de una sola célula, es la clave para controlar las concentraciones de importantes proteínas reguladoras como los receptores y enzimas, y por lo tanto es la clave para la regulación de las actividades esteroideogénicas de esas células

(Niswender *et al.*, 2000). La alta afinidad de los receptores de LH de las células luteales, permiten que el cuerpo lúteo se mantenga activo pese a las concentraciones bajas de esta hormona durante el diestro (Gigli *et al.*, 2006).

#### **4.5 Luteólisis.**

La luteólisis se define como la lisis del fallecimiento estructural del cuerpo lúteo. Durante una luteólisis, se presentan 2 eventos estrechamente relacionados. Primero, hay una pérdida de la capacidad de sintetizar y secretar progesterona, seguido por la pérdida de las células que conforman el cuerpo lúteo. En la mayoría de los mamíferos, la luteólisis depende de la presencia del útero. La histerectomía de vaquillas, ovejas, cerdas, cueros y muchas otras especies provoca un retraso en la luteólisis. Esto no ocurre tras la histerectomía de primates. La PGF2 $\alpha$  es el factor originado del útero que inicia la luteólisis en la mayoría de las especies no primates, ya sea su administración parenteral o por liberación intrauterina (Witherspoon *et al.*, 1975). Una muerte embrionaria temprana en la yegua generalmente está asociada con niveles bajos de progesterona; una irregularidad en la estructura del ovario, puede estar relacionada con una deficiencia en la vascularización, ya que desde que se forma el cuerpo lúteo, y ejerce su función endócrina, ambos son dependientes de la capilaridad (Ferrerira-Dias *et al.*, 2003). El inicio de la luteólisis por la PGF2 $\alpha$  en muchas especies, parece ser un efecto local entre cada cuerno uterino y su ovario ipsilateral (Pope *et al.*, 1983). Se ha postulado que la PGF2 $\alpha$  ingresa a la arteria ovárica por la vena útero-ovárica, por un mecanismo de contracorriente. Esto permite a la PGF2 $\alpha$  ir a la arteria ovárica sin entrar a la circulación pulmonar donde será inactivada enzimáticamente en los pulmones, esto en el caso de las vacas (Vanderwall *et al.*, 1999); en el caso de las yeguas la arteria no está en contacto directo con la pared de la vena útero-ovárica, por lo que la llegada de la PGF2 $\alpha$  se realiza en forma sistémica (Utt *et al.*, 2007). Durante la regresión lútea, los descensos iniciales de progesterona en el suero no parecen deberse a la pérdidas de células esteroideogénicas, ya que el número de células luteales no desciende hasta después de que las concentraciones de progesterona en el suero han disminuido. La disminución de progesterona es más

probable que sea a causa de un descenso en el flujo sanguíneo lúteo y por descenso en la capacidad esteroidogénica de cada una de las células lúteas. Sobre el día 15 del ciclo estral, las concentraciones de varios RNA<sub>m</sub>, como los que codifican las 3β-HSD y StAR, son altamente variables entre animales debido a diferencias en la sincronización del inicio de la luteólisis. De esta manera, el papel jugado por el RNA<sub>m</sub> específico en los descensos inducidos por la PGF2α en la síntesis de progesterona, han sido evaluados usando PGF2α exógena para conseguir una sincronización del inicio de la luteólisis. Una de las cuestiones que se ha establecido para iniciar la liberación de PGF2α, es que el estradiol derivado del folículo preovulatorio en desarrollo dispara la liberación de una pequeña cantidad de PGF2α uterina. La PGF2α inicia entonces un circuito de retroalimentación positiva de oxitocina lútea adicional y de PGF2α de origen lúteo y uterino. La oxitocina estimula la síntesis y secreción de la OGF2α de úteros de cueros, vaquillas, yeguas, credas y ovejas. Se ha propuesto recientemente que la liberación de PGF2α lútea, amplifica la señal luteolítica en una manera autócrina o parácrina (Niswender *et al.*, 2000).

Es bien sabido que en los primeros 40 días de la gestación, cuando la progesterona es totalmente dependiente del cuerpo lúteo, una repentina falla en la estructura puede provocar la liberación de PGF2α, con la fácil pérdida de la gestación y expulsión del embrión del útero. Los esteroides de origen son necesarios para mantener la gestación de la yegua durante los primeros 70-90 días después de la ovulación (Saint-Dizier *et al.*, 2003). Puede existir liberación de PGF2α debido a una endotoxemia de origen gastrointestinal, o por una inyección de endotoxinas, lo cual provoca la luteólisis y pérdida de la gestación en la yegua, pero no después dentro de esta etapa, debido al enorme soporte luteotrópico que tiene la eCG con el desarrollo de los cuerpos lúteos secundarios (Allen, 2001).

#### **4.6 Flujo Sanguíneo y Cambios Vasculares.**

La PGF2 $\alpha$  reduce el flujo sanguíneo al cuerpo lúteo y de esta manera puede provocar luteólisis, al privar a la glándula de nutrientes, sustratos para la esteroidogénesis y de soporte luteotrópico (Wüstenhagen, 2002). Una vez que sucede la ovulación y el cuerpo lúteo está en pleno crecimiento su función está completamente relacionada a la formación de nuevos capilares (Ferreira-Dias *et al.*, 2006). La PGF2 $\alpha$  causa degeneración de células endoteliales luteales, provocando una reducción marcada en la densidad capilar, reduciendo por lo tanto el flujo sanguíneo al parénquima luteal. Parece que aún los niveles relativamente bajos de PGF2 $\alpha$  pueden inducir apoptosis en las células endoteliales capilares lúteas. Recientemente se ha implicado a la endotelina-1 como una posible mediadora de los efectos de la PGF2 $\alpha$  sobre el flujo sanguíneo. La PGF2 $\alpha$  estimula las células endoteliales del cuerpo lúteo para producir la endotelina-1 in vitro e in vivo. Además de su potente actividad vasoconstrictora, la endotelina-1 inhibe también la actividad esteroidogénica de poblaciones enriquecidas de células esteroidogénicas. Además, la endotelina-1 puede reducir el flujo sanguíneo durante la luteólisis temprana, causando constricción de la arteriola y la hipoxia resultante puede causar liberación adicional de endotelina-1. Las propiedades antiluteolíticas de la PGE<sub>2</sub> pueden en parte, estar manifestadas en su capacidad para atenuar las acciones vasoconstrictivas de la endotelina-1 (Niswender *et al.*, 2000).

#### **4.7 Señalamiento Intracelular.**

La PGF2 $\alpha$  actúa uniéndose a receptores específicos localizados en células lúteas esteroidogénicas grandes. Esos receptores pertenecen a la familia de receptores transmembranales unidos a proteína G. Al unirse a los receptores de alta afinidad, la PGF2 $\alpha$  induce la activación de PLC unido a la membrana por medio de una proteína G estimuladora. La fosfolipasa C cataliza la hidrólisis de fosfatidilinositol 4,5 bifosfato a inositol 1,4,5 trifosfato (IP<sub>3</sub>) y 1,2 diacilglicerol (DAG). Las mayores concentraciones citosólicas de IP<sub>3</sub> provocan liberación de

Ca<sup>2+</sup> libre, derivado del retículo endoplásmico, al compartimiento citoplasmático. El aumento de Ca<sup>2+</sup> libre y la DGA (localizada en la membrana plasmática) estimulan la actividad catalítica de la proteína cinasa dependiente de Ca<sup>2+</sup> (PKC localizada también en la membrana plasmática). Se cree que la proteína cinasa C regula muchas de las acciones antiesteroideogénicas de la PGF2 $\alpha$  en LLC. La activación de la PKC (proteína cinasa dependiente) induce la expresión y la activación de proteínas involucradas en la apoptosis en otros tipos celulares. Es posible que la apoptosis en las LLC se facilita por activación de la PKC (Samper *et al.*, 2007)

#### **4.8 Estrés Oxidativo.**

En la luteólisis y apoptosis están involucrados compuestos reactivos al oxígeno. Radicales anión (ión negativo) superóxidos, radicales hidroxil y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) son las principales especies que reaccionan al oxígeno, generadas en las células esteroideogénicas. Una cantidad considerable de estrés oxidativo experimentado durante la luteólisis es quizá producido por macrófagos dentro del cuerpo lúteo en regresión. Los efectos tóxicos de esas sustancias son atenuados por vitaminas y antioxidantes (ascorbato, alfa tocoferol), enzimas (catalasa, superóxido dismutasa, isozimas y glutatión peroxidasa), y en menor proporción, por la estabilización de radicales, mediante transferencia de electrones no pares, a lípidos membranosos poliinsaturados. Las enzimas superóxido dismutasa catalizan la conversión del radical anión superóxido al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> más estable, el cual es convertido entonces a H<sub>2</sub>O por la catalasa o glutatión peroxidasa. Las vitaminas antioxidantes estabilizan los radicales libres por formación de estructuras de resonancia al aceptar electrones no pares. Consistente con el concepto de una disminución de la protección celular en contra del estrés oxidativo, hay disminución en los niveles de RNA<sub>m</sub> que codifica el SOD secretado y mitocondrial (Niswender *et al.*, 2000).

## **5. Gonadotropina Coriónica Equina (eCG).**

### **5.1 Estructura de la eCG**

Todas las gonadotropinas son hormonas glicoprotéicas heterodiméricas, consistentes en unidades  $\alpha$  y  $\beta$  (Legardinier *et al.*, 2005). La subunidad  $\alpha$  de las glicoproteínas es común en la LH, FSH y TSH en muchas especies como en los humanos. Pero la subunidad  $\beta$  difiere entre las hormonas debido a que tienen diferencia con su actividad biológica (Couture *et al.*, 1994). Se ha reportado que la subunidad  $\alpha$  del equino tiene una cantidad de 82 aminoácidos (Murphy y Martinuk, 1991). Existen recientes estudios que han revelado que la eCG tiene una gran cantidad de azúcares, hexosamina y ácido siálico, distribuidos entre las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ ; existe una gran concentración de galactosa, glucosamina y ácido siálico en la cadena  $\beta$  (Papkoff *et al.*, 1978); más aún, se ha demostrado que la subunidad  $\alpha$  de la eCG tiene alrededor del 22% de su peso de carbohidratos. La subunidad  $\beta$  del la eCG tiene alrededor del 50 % de su peso de carbohidratos y probablemente 6 cadenas de carbohidratos: galactosa y ácido siálico como componentes principales. El origen de la eCG es determinante por su gran cantidad de carbohidratos (Saint-Dizier *et al.*, 2004), derivado de las copas endometriales de la yegua, secretada por las células trofoblásticas del embrión. Se ha establecido que las estructuras primarias de la LH y la eCG son idénticas, pero solo existen unas pequeñas variaciones debido a su contenido de carbohidratos. El contenido de hexosa y de hexosamina en la LH es tan alrededor del 65% de la eCG. Su gran diferencia estriba en su contenido de ácido siálico, en la cuál es 2 veces más abundante en la eCG. Esta diferencia entre los componentes de carbohidratos es probablemente debido al sitio específico en donde ocurre la glicotransferencia de enzimas, en las cuales e ha demostrado que varían entre la pituitaria y placenta en las diversas especies. El contenido total de carbohidratos que circulan en la eCG de yeguas gestantes con embrión mula, se ha reportado que es del 31% aproximadamente, tan solo dos terceras partes de la que se encuentra en la eCG de yeguas gestantes con embrión de caballo, así como también sus bajas cantidades de hexosamina y de ácido siálico. La homología

entre la eCG y LH de yeguas gestantes con embrión mula aun no se ha demostrado, pero ambas tienen la misma actividad biológica. La eCG de yeguas gestantes con embrión mula contiene 2 veces más de contenido de carbohidratos que la LH de yeguas gestantes con embrión mula, y, así como en el caballo, las diferencias son amplias en su contenido de ácido siálico (Murphy y Martinuk, 1991).

## **5.2 Secreción de la eCG en gestaciones de yegua con caballo y yegua con burro.**

En el día 27 de la gestación se comienza a formar una banda de tejido vascular denominada cinturón coriónico (Wooding *et al.*, 2001), que por medio de movimientos amioideos se desprenden del córion y llegan a la parte caudal de los cuernos para formar las copas endometriales (Rathwell *et al.*, 1987). Esta invasión de copas endometriales produce la hormona eCG (gonadotropina coriónica equina) (Allen y Stewart., 1993), dentro de la circulación que conjuntamente con la estimulación de la pituitaria y la FSH, estimulan el desarrollo de los cuerpos lúteos accesorios en donde se han llegado a detectar desde el día 38 de la gestación (Bergfelt *et al.*, 1989) con la finalidad de tener un soporte extra de progesterona para poder mantener la gestación, hasta que la placenta sea capaz de mantenerla por sí sola hasta el día 100 (Allen, 2001).

La primera aparición de la eCG coincide con la migración de células coriónicas especializadas en el endometrio. Esta hormona se encuentra presente en el suero de la yegua gestante desde el día 30 (Dales *et al.*, 1995) de la gestación y sus niveles se elevan a partir del día 45 de la gestación (Meenakshi *et al.*, 2006). Generalmente el pico de esta hormona en el saco de gestaciones con embrión caballo se encuentra entre los días 55 y 70 de la gestación (Daels *et al.*, 1995), llegando a alcanzar niveles hasta de 62.5 UI/ml al día 90 de la gestación (Meenakshi *et al.*, 2006); también se ha identificado la eCG en heces para la detección de la gestación (Henderson *et al.*, 1998), en orina solo se han detectado variaciones por radioinmunoanálisis (Roser *et al.*, 1989). Esta hormona continúa disminuyendo sus niveles alrededor del día 130 de la gestación, aunque se han

llegado a encontrar valores en sangre en el día 200 de la gestación. Esta invasión de células trofoblásticas en el endometrio materno tiene implicaciones inmunológicas y endocrinológicas sobre el mantenimiento de la gestación. La opa endometrial fetal secreta grandes cantidades de una hormona glicoproteica de alto peso molecular llamada eCG, la cual expresa actividades biológicas tanto de FSH como de LH en una proporción de 1.4:1 (Allen, 2001). Existe una gran variación individual entre las yeguas y la cantidad de hormona secretada. Los patrones de aparición de la eCG en la yegua, están completamente correlacionadas con el grosor y los cambios histológicos presentes en el endometrio. Se han reportado que el máximo desarrollo que tienen las copas endometriales en las yeguas se encuentra en el día 65 de la gestación (Ginther, 1979); sin embargo existe degeneración de éstas copas endometriales, comienza a existir citolisis y fagocitosis que comienza en el día 60 de la gestación en hembras gestantes con embrión de caballo y no es hasta el día 120-150 en que las copas endometriales han desaparecido (C. Samper *et al.*, 2007); en el caso de gestaciones híbridas de yeguas gestantes con embrión mula, el cual es el resultado del contacto sexual entre una yegua (*Equus caballus*) y un burro (*Equus asinus*) (Camillo *et al.*, 2003), ( existe un rechazo inmunológico desde el día 50 hasta desaparecer por completo las copas endometriales en el día 80-90 de la gestación (Boeta y Zarco, 2005). Este rechazo se debe a una gran acumulación de linfocitos T, que es seguida por una gran infiltración de linfocitos B, macrófagos, eosinófilos y células plasmáticas en el tejido endometrial que rodea cada copa, produciéndose una reacción inmune celular acompañada de la aparición de anticuerpos citotóxicos dirigidos en contra de los antígenos paternos tipo I del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de las células de las copas endometriales. Dicho complejo es producido por el trofoblasto equino. En el caso de la 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 invadir las copas endometriales desde el día 50 de la gestación (Boeta, 1996).

El desarrollo del cinturón coriónico y las copas endometriales, así como el perfil de secreción de la eCG, dependen de la interacción entre los genotipos paternos y maternos. En gestaciones en las que el padre es caballo y la madre es yegua, el cinturón coriónico se desarrolla adecuadamente, y hacia el día 35 de la gestación las células coriónicas ya han invadido el endometrio materno y secretan gran cantidad de gonadotropina coriónica equina (Allen *et al.*, 1987).

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 (Boeta, 1996).

### **5.3 Actividad Biológica de la eCG.**

La subunidad  $\alpha$  disociada de la eCG, tiene menos del 4% de la actividad de la molécula intacta, y la subunidad  $\beta$  alrededor del 6%. En yeguas gestantes con embrión caballo la subunidad  $\alpha$  de la LH, la cual es homóloga a la subunidad  $\alpha$  de la eCG, inhiben los eventos inducidos en los testículos de ratas, sugiriendo esto que existe interacción con los receptores de FSH (Murphy y Martinuk, 1991).

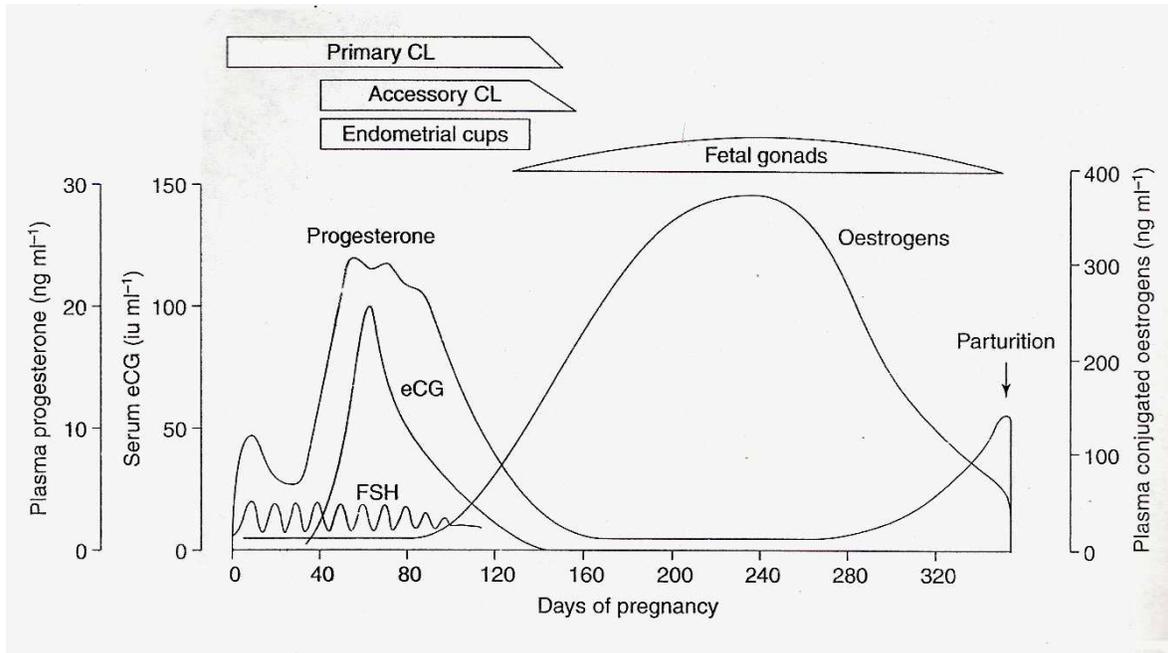
La función de la eCG ha sido atribuida a la manutención de las estructuras lúteas, las cuales aparecen alrededor del día 40 de la gestación; éstas estructuras son conocidas como cuerpos lúteos secundarios derivadas de ovulaciones y su luteinización de folículos ováricos que se desarrollan entre el día 17 y 50 de la gestación. Ambos, tanto los cuerpos lúteos primarios como los cuerpos lúteos secundarios persisten hasta el día 160-180 de la gestación y ambos continúan secretando grandes cantidades de progesterona durante este periodo. Aquellos folículos precursores de cuerpos lúteos secundarios son los precursores para que se lleve a cabo la invasión en el endometrio de las células coriónicas, indicando que esta foliculogénesis es independiente de la eCG. Sin embargo, los cuerpos lúteos secundarios incrementan los niveles de progesterona mucho después de

que aparece la eCG en el plasma sanguíneo. La eCG puede inducir la ovulación en otras especies distintas a la equina. Los niveles de eCG en la yegua en yeguas gestantes con embrión de caballo se encuentran alrededor de 1-5  $\mu\text{g/ml}$  mientras que los niveles de LH asociados con el origen preovulatorio se encuentran entre 5-130  $\text{ng/ml}$ . Por lo tanto, los niveles de eCG son suficientes para inducir la ovulación en la yegua. Las elevaciones en las concentraciones de progesterona en la circulación en la yegua, las cuales están asociadas con la presencia de eCG, sugieren un rol luteotrópico para la eCG y lograr mantener así los cuerpos lúteos tanto primarios como secundarios. Soportando esta hipótesis, la eCG puede estimular la producción *in vitro* los cuerpos lúteos tanto primarios como secundarios derivados de los folículos (Murphy y Martinuk, 1991).

Para dar soporte a la visión de que la eCG es necesaria para las gestaciones de los equinos, varios embriones de gestaciones de embrión mula fueron transferidos a úteros de 4 yeguas a las cuales se les detectaron niveles bajos de eCG en donde solo una yegua abortó. La administración de varias dosis de eCG a yeguas al mismo tiempo en que se efectuaba la transferencia de embriones mula, no aumentaron las concentraciones de progesterona en el plasma sanguíneo, y obviamente abortaron. Este resultado es difícil de interpretar debido a que muchos animales son tratados con progestágenos sintéticos, sin ningún efecto aparente. Se ha concluido que la eCG tiene un rol luteotrópico en la gestación de la yegua, y basados en varios partos de embriones de caballos trasplantados a úteros de mulas, la eCG no es necesaria (Daels *et al.*, 1995).

Ha sido bien determinado que el cuerpo lúteo secundario es necesario para soportar la gestación en la yegua. El útero y la placenta de la yegua contribuyen en la circulación de la progesterona por al menos en el día 80 de la gestación. Se puede concluir que el rol que juega la eCG en los equinos es inducir la ovulación y/o luteinización de los cuerpos lúteos primarios y secundarios. La eCG sirve como un sistema redundante para el mantenimiento de la gestación hasta que el soporte de progesterona por parte de la placenta se haga cargo de la gestación (Murphy B y Martinuk, 1991). También se ha estudiado que la eCG estimula la producción

luteal tanto de andrógenos (Dales *et al.*, 1998) como de estrógenos en la yegua gestantes (Albrecht *et al.*, 2001).



**FIG 8.** Resumen de los eventos endocrinológicos de la gestación en la yegua. Las copas endometriales están presentes en el útero entre el día 40 y 120 después de la ovulación y la gonadotropina que secretan (eCG) provoca la ovulación y luteinización de los folículos secundarios, que son estimulados por el desarrollo de los ovarios maternos por los siguientes 10-12 días en que surge la liberación de FSH de la glándula pituitaria. Durante la segunda etapa de la gestación, los precursores del esteroide C-19 secretan gónadas fetales que son aromatizadas por la placenta para producir altas concentraciones de estrógenos  $\beta$ -insaturados en la sangre y orina materna. Las concentraciones plasmáticas de progesterona materna bajan sus niveles en sangre debido a que la placenta sintetiza la progesterona necesaria para la segunda etapa de la gestación, pero estos niveles se incrementan durante la 4-6 semana final como resultado de la secreción de pregnenolona de las glándulas adrenales fetales (Allen, 2001).

### **III. HIPÓTESIS.**

Las yeguas servidas con embrión mula a las que se les aplique una sola dosis de 5 mg de PGF2 $\alpha$  en el día 90 de la gestación abortarán, ya que los niveles de eCG son muy bajos en esa etapa, sus copas endometriales son más pequeñas y el cinturón coriónico es más estrecho.

Las yeguas servidas con embrión caballo a las que se les aplique una sola dosis de 5 mg de PGF2 $\alpha$  en el día 90 de la gestación no abortarán.

### **IV. OBJETIVO GENERAL.**

Evaluar la resistencia al efecto luteolítico de la PGF2 $\alpha$  en yeguas gestantes con embrión caballo y yeguas gestantes con embrión mula.

### **V. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- Comparar los niveles hormonales en las concentraciones de P<sub>4</sub> (progesterona), eCG (gonadotropina coriónica equina) y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (sulfato de estrona), antes y después de la administración de la PGF2 $\alpha$  en el día 90 de la gestación.
- Comparar la incidencia de abortos en yeguas gestantes con embrión de caballo y yeguas gestantes con embrión de mula, después de la administración de una sola dosis de 5 mg de PGF2 $\alpha$  en el día 90 de la gestación.

## VI. MATERIAL y MÉTODOS.

El presente trabajo de investigación se realizó en Chalco, Estado de México en el Rancho San Francisco propiedad de la Universidad Nacional Autónoma de México-FMVZ, el cual se llevó a cabo en los meses que abarcaron desde Marzo hasta Diciembre de año 2007.

Se utilizaron 28 animales clínicamente sanos, divididos en 4 grupos de 7 animales cada uno:

El grupo 1 (experimental), estuvo constituido por 7 yeguas gestantes con embrión de mula, a las cuales en el día 90 de la gestación se les aplicó por vía intramuscular 1 sola dosis con 5 mg de PGF<sub>2</sub>α natural (Lutalyse).

El grupo 2 (experimental), estuvo constituido por 7 yeguas gestantes con embrión de caballo, a las cuales a partir del día 90 de la gestación se les aplicó el mismo tratamiento con PGF<sub>2</sub>α.

Los grupos 3 y 4 sirvieron como testigos y estuvieron formados respectivamente por 7 yeguas gestantes con embrión de mula y 7 yeguas gestantes con embrión de caballo, los cuales recibieron 1 sola vez a partir del día 90 de la gestación una inyección vía intramuscular de solución salina fisiológica (1 ml).

Antes y después de los tratamientos se evaluaron las concentraciones séricas de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para todos los grupos. Se incluyó un periodo de sangrados (1 antes de empezar el tratamiento con la PGF<sub>2</sub>α y posteriormente al tratamiento cada 12 horas durante 5 días) así como evaluaciones ultrasonográficas frecuentes (1/día), con el objeto de evaluar en forma aguda los efectos agudos de la PGF<sub>2</sub>α sobre la función y apariencia de los cuerpos lúteos de la gestación.

Todas las yeguas fueron sincronizadas durante 9 días con Regumate® de Laboratorios Intervet a una dosis de 0.044 mg/kg de peso corporal vía oral (4 mg/ml de Altrenogest) (McKinnon *et al.*, 1992) y al final del tratamiento se les aplicó una dosis de PGF<sub>2</sub>α (5 mg) de Lutalyse vía intramuscular (Douglas y Ginther, 1972) para que la mayor parte de las yeguas entraran en calor (Ahmadi *et al.*, 2000) y fueran inseminadas artificialmente (Camillo *et al.*, 1997) lo más cercano a la ovulación (Zarco y Boeta, 1995; Plata-Madrid *et al.*, 1994; Ahmadi *et*

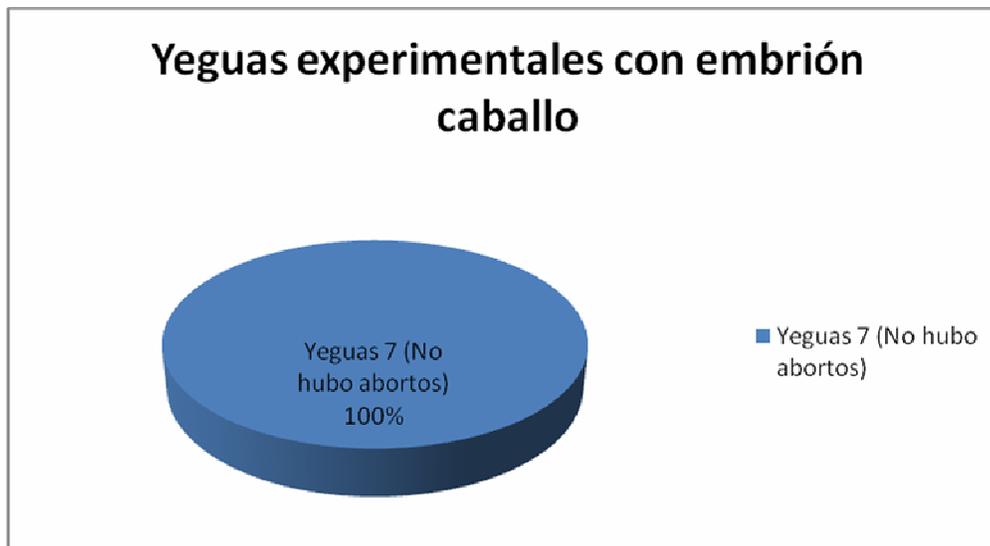
*al.*, 2000). Todas las yeguas se palparon vía transrectal (Ataman *et al.*, 1999). Algunas yeguas les fue administrada la hormona hCG para inducir la ovulación (Gomez *et al.*, 2004). Para las inseminaciones se colectaron tanto al caballo como al burro con una vagina modelo Hannover. El diagnóstico de la gestación se efectuó en el día 14 después de la ovulación (Kanitz *et al.*, 2007) con un ultrasonido de la marca Aloka y un transductor de 5 Mhz; se efectuaron evaluaciones ultrasonográficas 2 veces por semana con la finalidad de observar la viabilidad del embrión y/o feto. Después de los 60 días de gestación se utilizó un transductor de 3.5 Mhz (Ataman *et al.*, 1999). Se obtuvieron muestras de sangre 2 veces por semanas para evaluar niveles hormonales de P<sub>4</sub> (progesterona), eCG (gonadotropina coriónica equina) y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (sulfato de estrona), con la finalidad de poder evaluar el daño que pudiese provocar la aplicación de 5 mg de PGF<sub>2</sub>α en el día 90 de la gestación tanto en yeguas gestantes con embrión de caballo como en yeguas gestantes con embrión de mula, que normalmente en esta etapa de la gestación (día 90) no provoca abortos (Daels *et al.*, 1995).

## VII. RESULTADOS.

A continuación se presentan las gráficas que indican los abortos presentados durante la fase experimental después de la aplicación de 5 mg de PGF2 $\alpha$ , en yeguas experimentales gestantes con embrión mula y yeguas experimentales gestantes con embrión de caballo

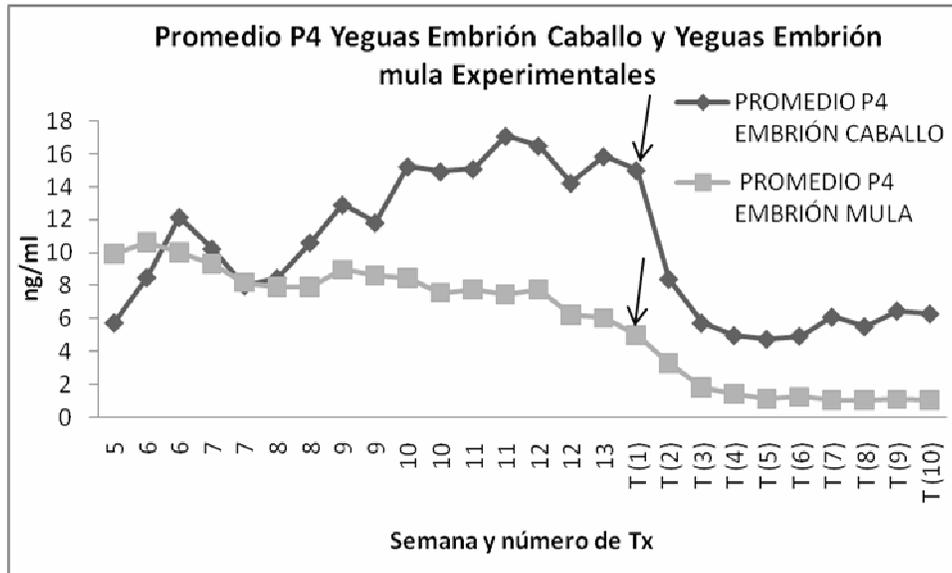


**Gráfica 1.** Número de abortos presentados en yeguas gestantes con embrión mula después de la aplicación de 1 ml de PGF2 $\alpha$  vía IM en el día 90 de la gestación, lo cual representa el 14% del total de yeguas experimentales gestantes con embrión mula de un total de 7 yeguas.

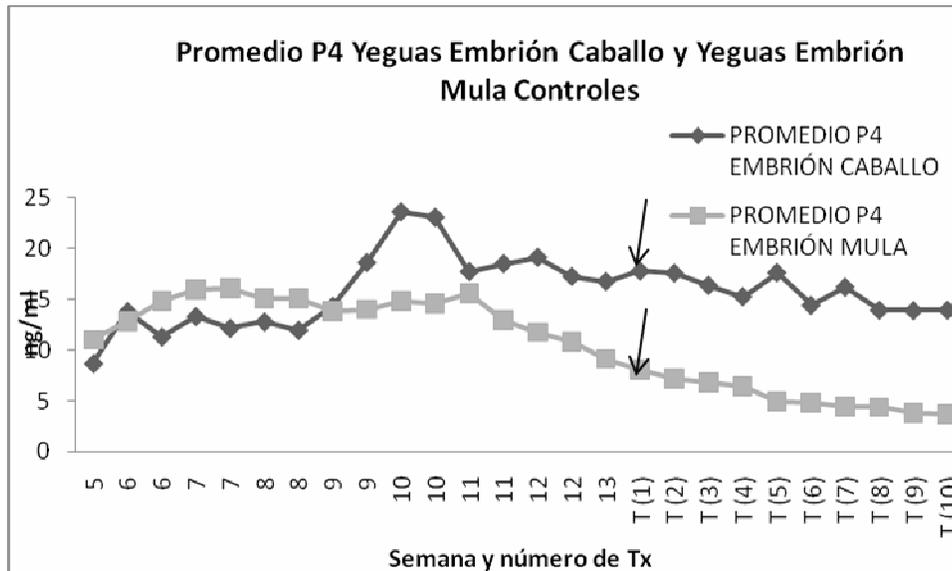


**Gráfica 2.** No se presentó ningún aborto después de haber aplicado 1 ml de PGF2 $\alpha$  vía IM en el día 90 de la gestación de un total de 7 yeguas experimentales gestantes con embrión de caballo.

En las gráficas 3, 4, 5, 6, 7 y 8 se muestran los promedios de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, de yeguas gestantes con embrión caballo y yeguas gestantes con embrión mula tanto del grupo experimental como del grupo control.

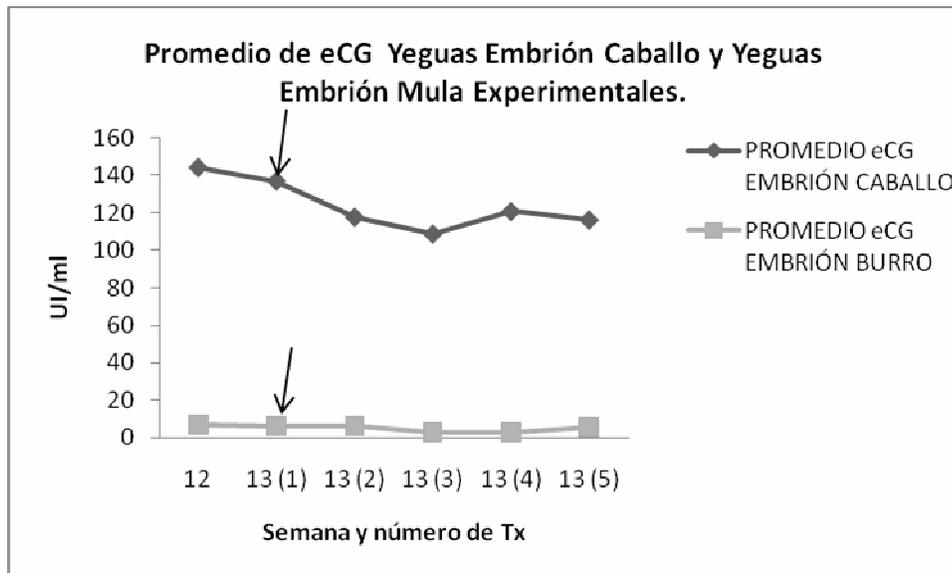


**Gráfica 3.** Promedio de P<sub>4</sub> en yeguas gestantes con embrión de caballo y yeguas gestantes con embrión de mula experimentales en diferentes semanas de la gestación. Nótese que después de la semana 7 son superiores los niveles de esta hormona en yeguas gestantes con embrión de caballo. Las flechas indican la semana en que se aplicó la PGF2 $\alpha$ .

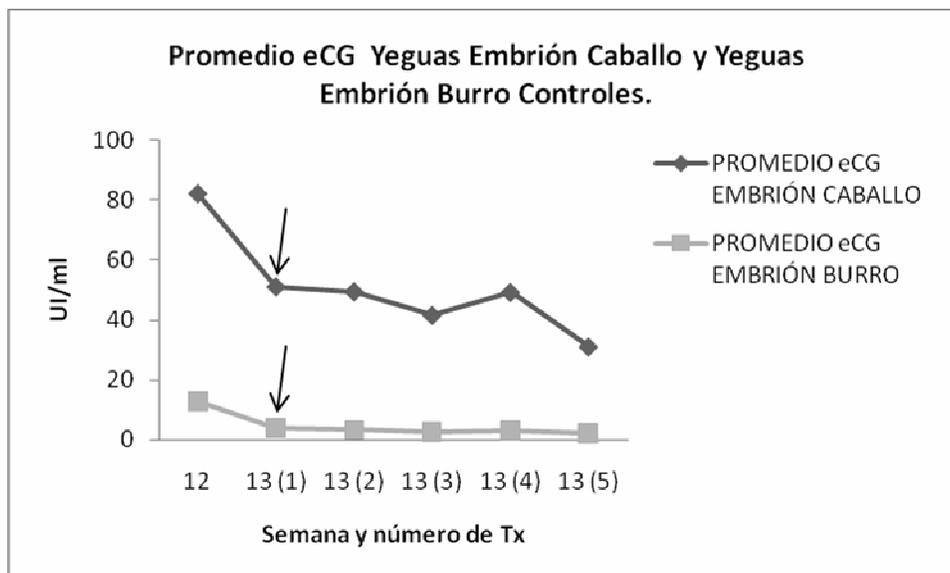


**Gráfica 4.** Promedio de P<sub>4</sub> en yeguas gestantes con embrión de caballo y yeguas gestantes con embrión de mula controles en diferentes semanas de la gestación. Nótese que después de la semana 9 son superiores los niveles de esta hormona en yeguas

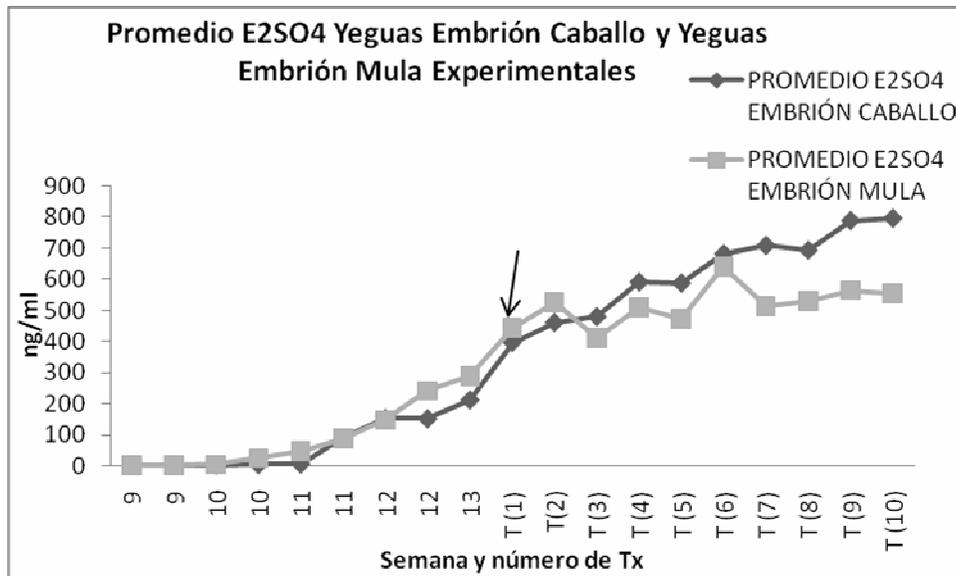
gestantes con embrión de caballo. Las flechas indican la semana en que se aplicó la solución salina fisiológica.



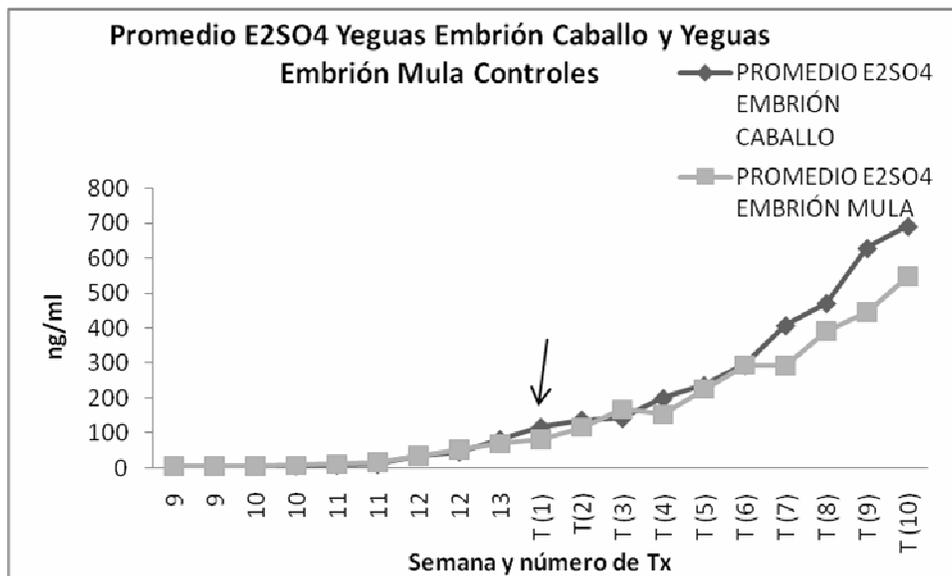
**Gráfica 5.** Promedio de eCG en yeguas gestantes con embrión caballo y yeguas gestantes con embrión de mula experimentales. Nótese que los niveles de esta hormona son muy superiores en yeguas gestantes con embrión de caballo. Las flechas indican la semana en que se aplicó la PGF2 $\alpha$ .



**GRÁFICA 6.** Promedio de eCG en yeguas gestantes con embrión caballo y yeguas gestantes con embrión de mula controles. Nótese que los niveles de esta hormona son muy superiores en yeguas gestantes con embrión de caballo. Las flechas indican la semana en que se aplicó la solución salina fisiológica.



**Gráfica 7.** Promedio de  $E_2SO_4$  en yeguas gestantes con embrión caballo y yeguas gestantes con embrión mula experimentales. Nótese que en el tratamiento del día 2 de la semana 13, los promedios de esta hormona en yeguas gestantes de embrión caballo se elevan más. La flecha indica la semana en que se aplicó la PGF2 $\alpha$ .

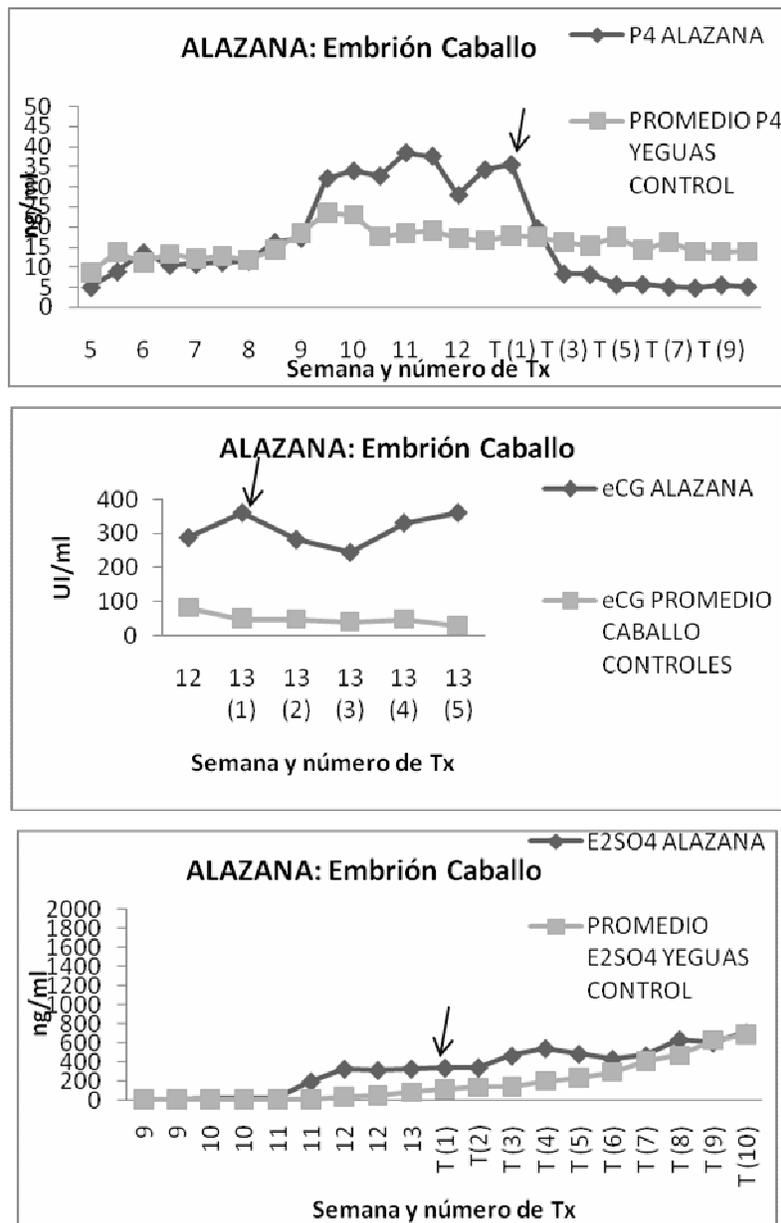


**Gráfica 8.** Promedio de  $E_2SO_4$  en yeguas gestantes con embrión caballo y yeguas gestantes con embrión mula controles. Nótese que los niveles de esta hormona son casi idénticos hasta el tratamiento 7 de la semana 13 en donde estos niveles se encuentran por arriba de las yeguas gestantes con embrión mula. La flecha indica la semana en que se aplicó la solución salina fisiológica.

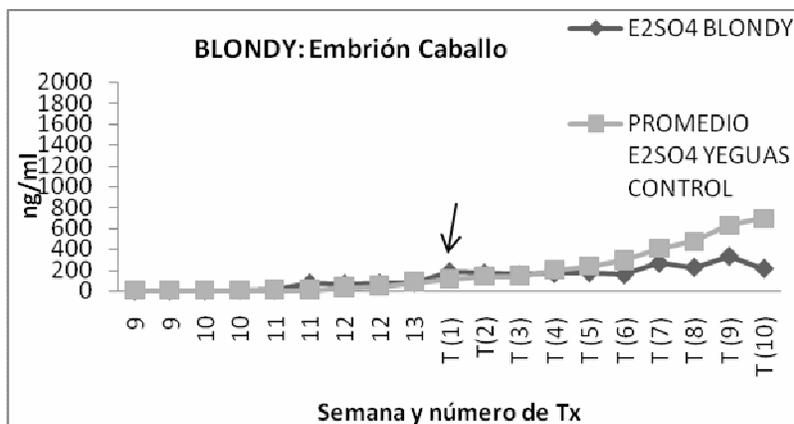
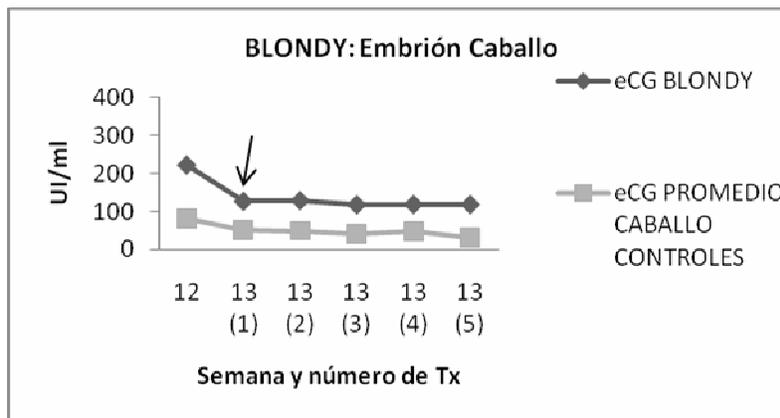
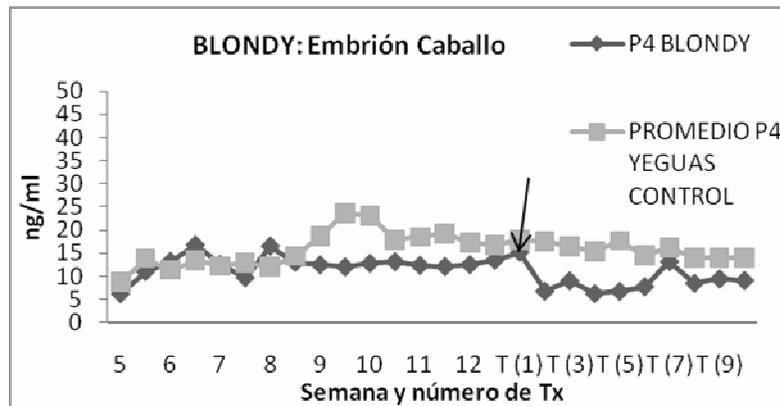
Las concentraciones de todas las hormonas fueron significativamente mayores en yeguas gestantes con embrión caballo tanto en los grupos experimentales como en los grupos controles, a comparación de las yeguas gestantes con embrión mula. En el caso de la eCG tanto en yeguas gestantes con embrión caballo y yeguas gestantes con embrión mula de los grupos experimentales y controles, los niveles desde la semana 12 descendieron casi a niveles basales, lo que indica y confirma que existe destrucción antes de las copas endometriales en yeguas gestantes con embrión mula (C. Samper *et al.*, 2007); notablemente también existe un descenso en los niveles de  $P_4$  desde la semana 12 tanto en grupos experimentales como en grupos controles, a pesar de esto, los niveles de  $P_4$  en el grupo control se muestran más estables. En el caso del  $E_2SO_4$  tanto en grupos controles como en experimentales, no se nota una gran diferencia; sin embargo, los niveles son más altos para yeguas gestantes con embrión caballo que en yeguas gestantes con embrión de mula.

A continuación se describirá el caso de cada una de las yeguas experimentales tanto gestantes con embrión de caballo como gestantes con embrión de mula en cuanto a niveles hormonales después de la aplicación de la  $PGF2\alpha$  en el día 90 de la gestación. Ninguna de las yeguas gestantes con embrión de caballo abortó; sin embargo, sus niveles hormonales fueron alterados; por el contrario, en el caso de yeguas gestantes con embrión de mula se presentó un solo aborto y los niveles hormonales de las yeguas también se vieron afectados.

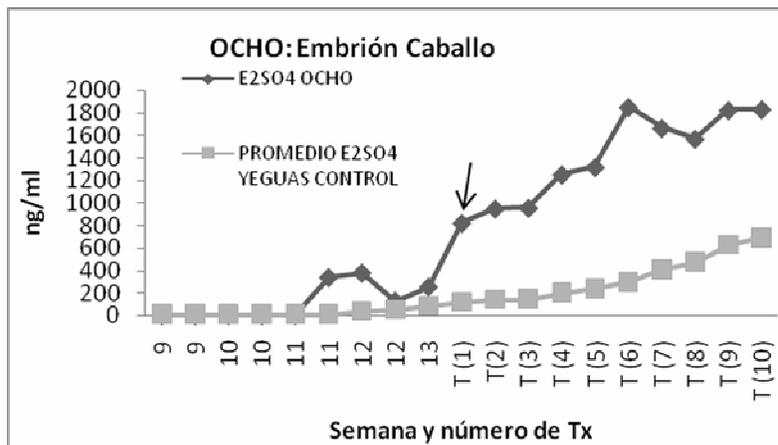
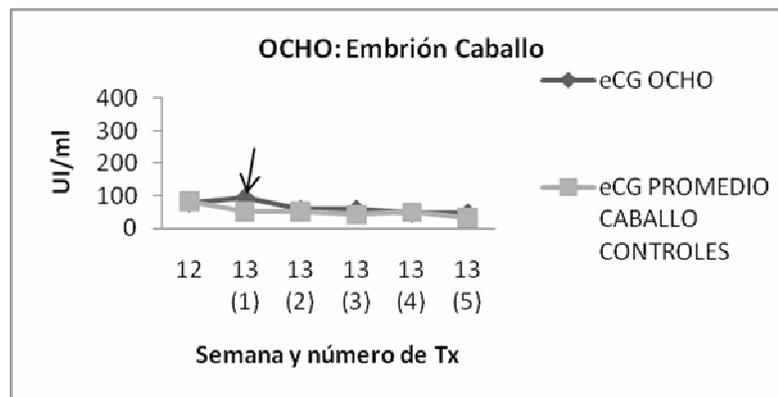
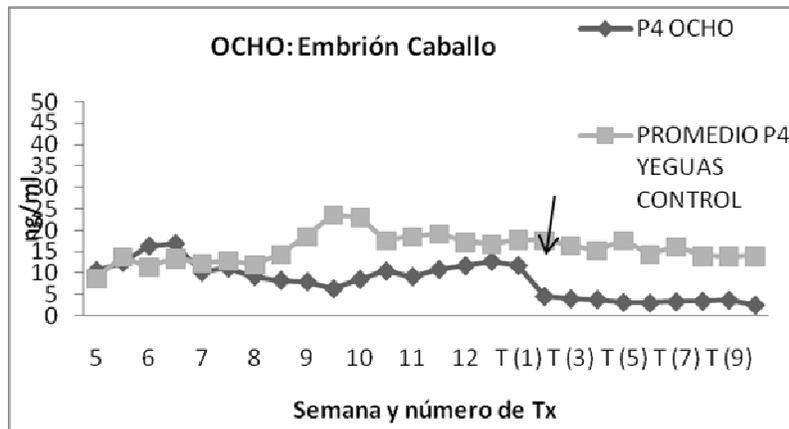
## 9.1 YEGUAS GESTANTES CON EMBRIÓN CABALLO EXPERIMENTALES.



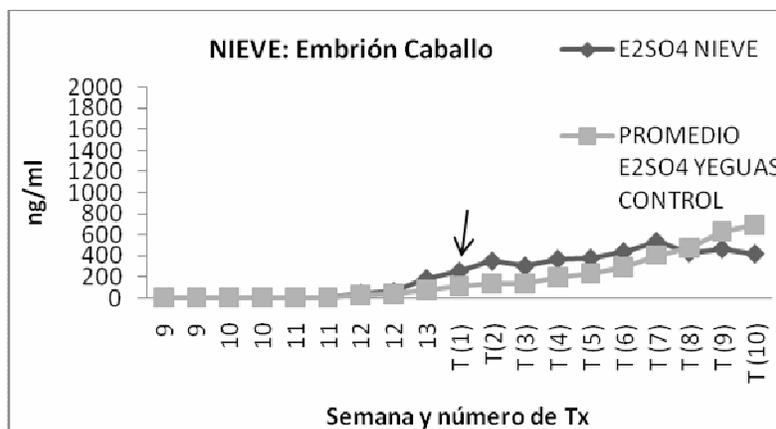
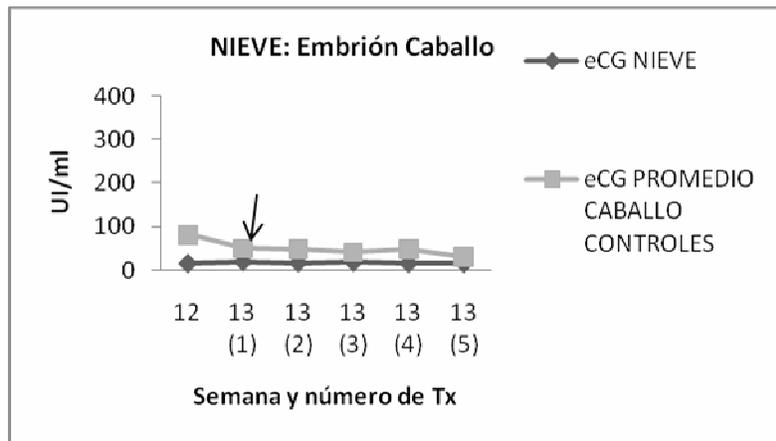
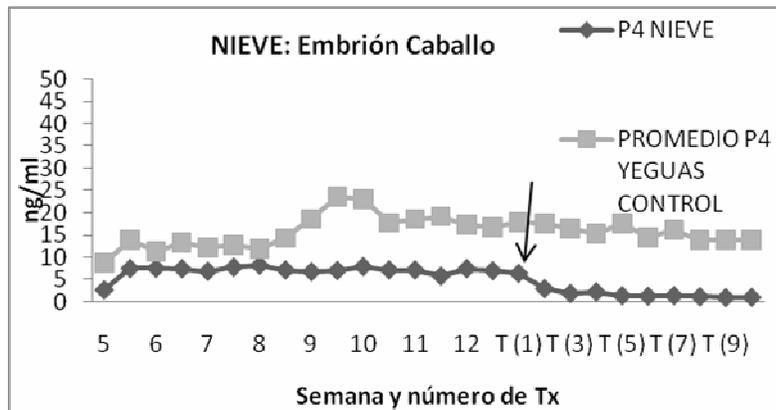
**Gráfica 9.** Yegua: Alazana. Concentraciones de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la PGF<sub>2</sub>α. Se observan sus valores hormonales comparados con el promedio de yeguas control. Se puede observar un descenso en los niveles de P<sub>4</sub> 12 horas después de haber aplicado el tratamiento con PGF<sub>2</sub>α, así como en la eCG. En el caso de la E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, parece no haber sido afectada.



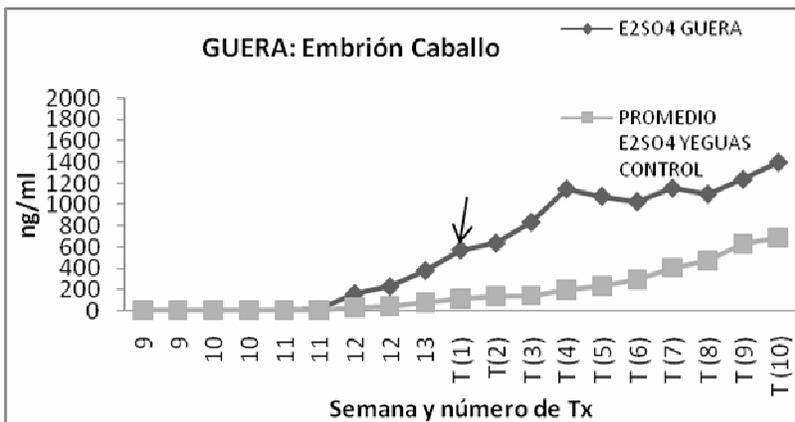
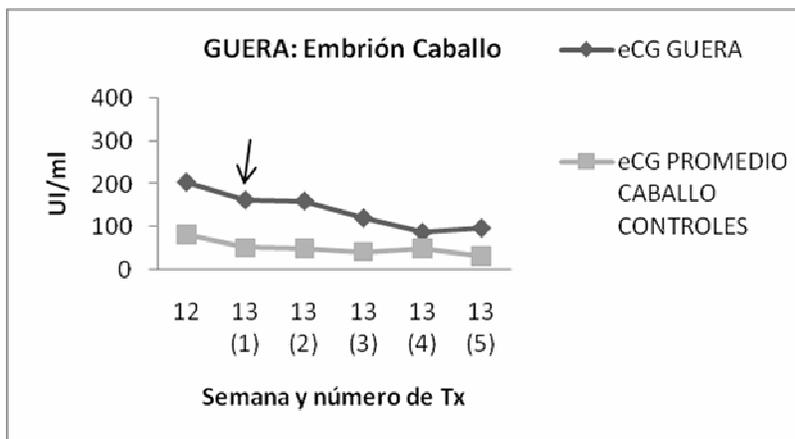
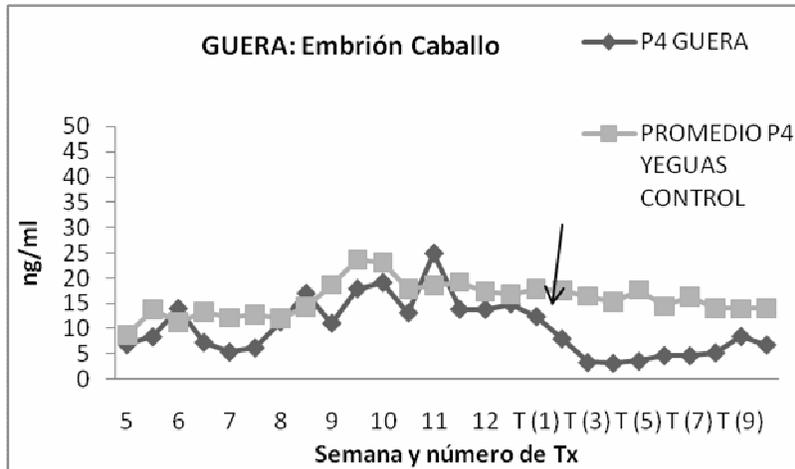
**Gráfica 10.** Yegua: Blondy. Concentraciones de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la PGF<sub>2</sub>α. Se observan sus valores hormonales comparados con el promedio de yeguas del grupo control. Se puede observar que en los niveles de P<sub>4</sub> antes de iniciar el tratamiento con PGF<sub>2</sub>α, se encuentra por debajo del grupo control; no así para eCG ni E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.



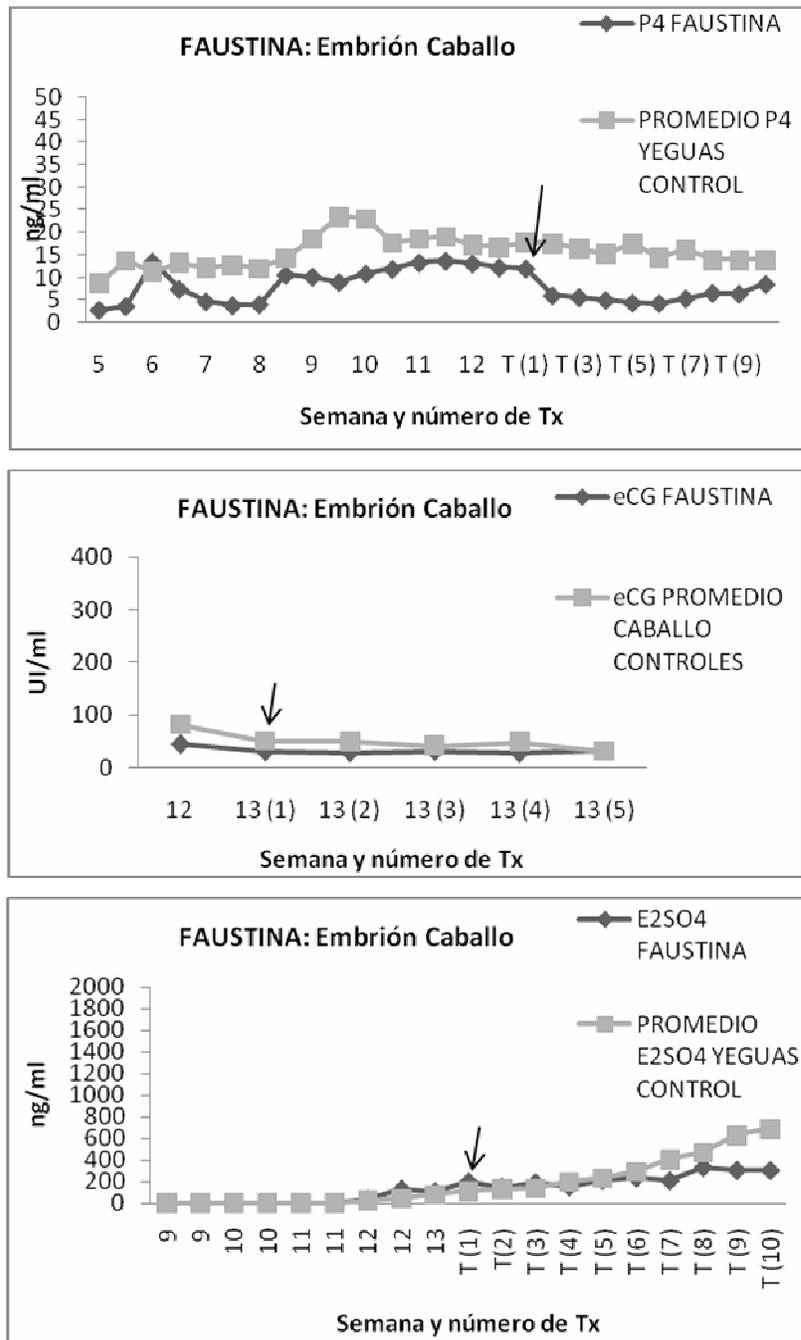
**Gráfica 11.** Yegua: Ocho. Concentraciones de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la PGF<sub>2</sub>α. Nótese que los niveles de P<sub>4</sub> antes de aplicar el tratamiento con PGF<sub>2</sub>α son un poco menores que las del grupo promedio control. No así para el caso de la eCG ni la E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.



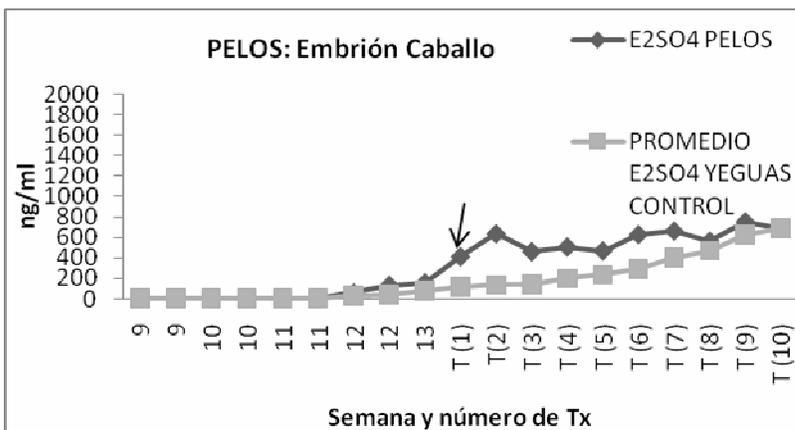
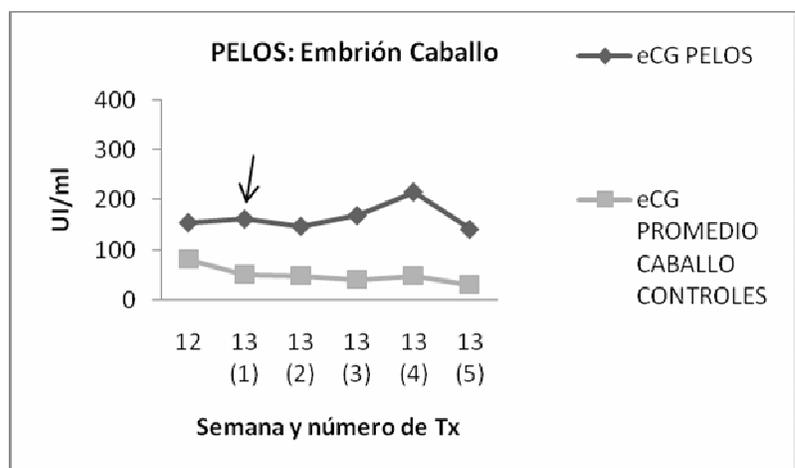
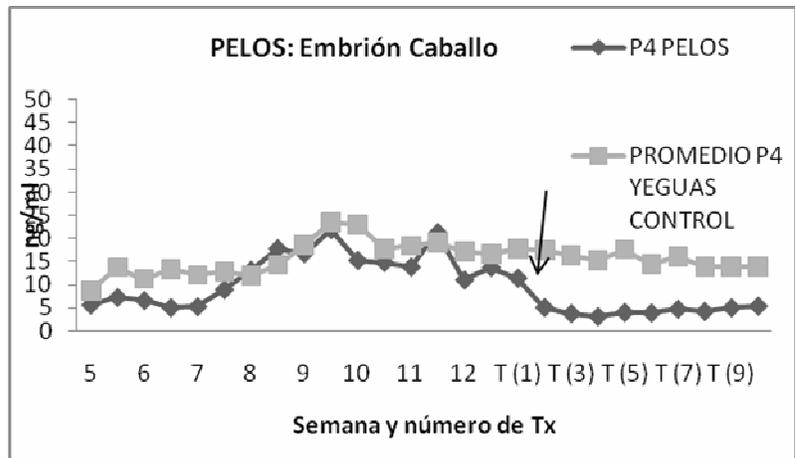
**Gráfica 12.** Yegua: Nieve. Concentraciones de  $P_4$ , eCG y  $E_2SO_4$  en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la  $PGF_{2\alpha}$ . Nótese que los niveles de  $P_4$  antes de aplicar el tratamiento con  $PGF_{2\alpha}$  son menores que las del grupo promedio control. No así para el caso de la eCG ni la  $E_2SO_4$ .



**Gráfica 13.** Yegua: Guera. Concentraciones de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la PGF<sub>2</sub>α. Nótese que los niveles de P<sub>4</sub> antes de aplicar el tratamiento con PGF<sub>2</sub>α son casi idénticos; sin embargo, para el caso de la eCG y la E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> fue superior que las del grupo promedio control.

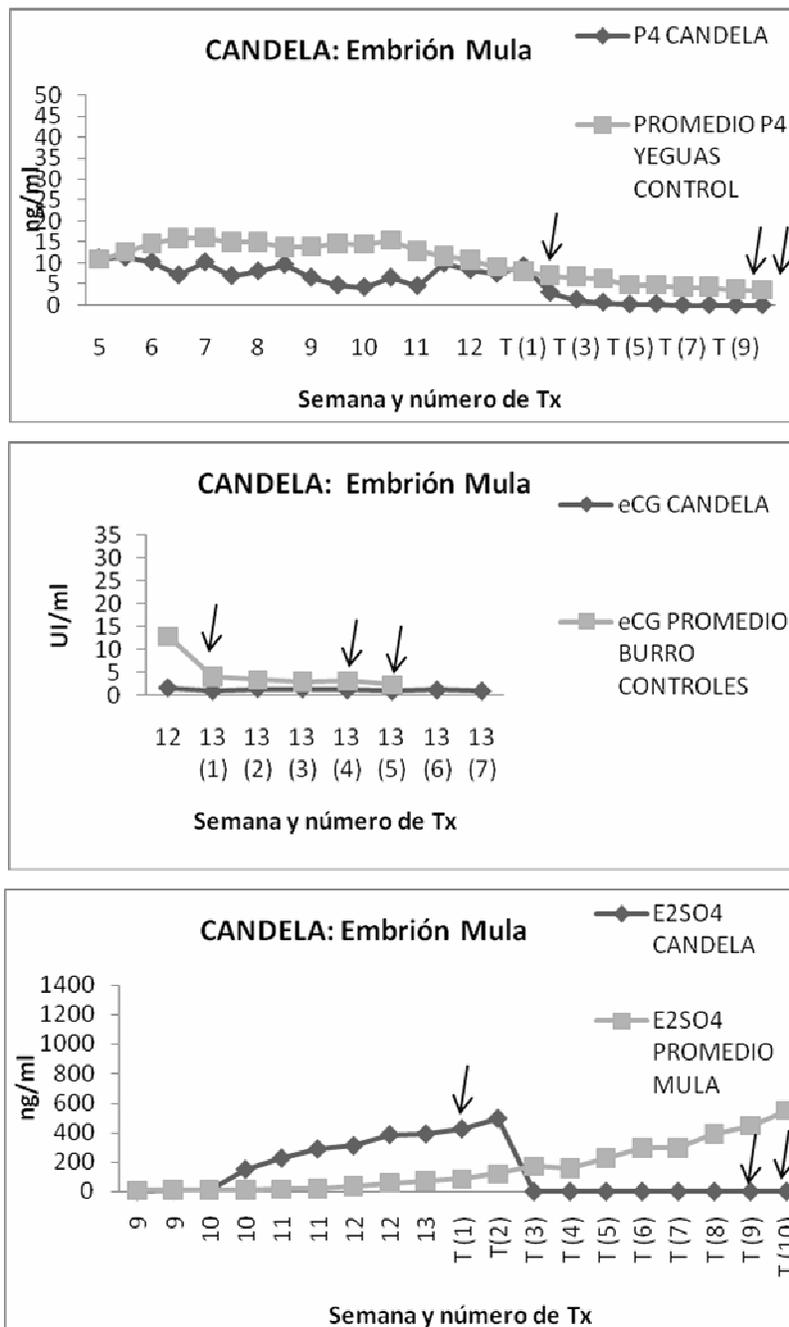


**Gráfica 14.** Yegua: Faustina. Concentraciones de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la PGF<sub>2</sub>α. Nótese que los niveles de P<sub>4</sub> antes de aplicar el tratamiento con PGF<sub>2</sub>α son un poco más bajos que las del grupo control; sin embargo, para el caso de la eCG existió una mínima diferencia por abajo del control y la E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> se comportó de manera estable.

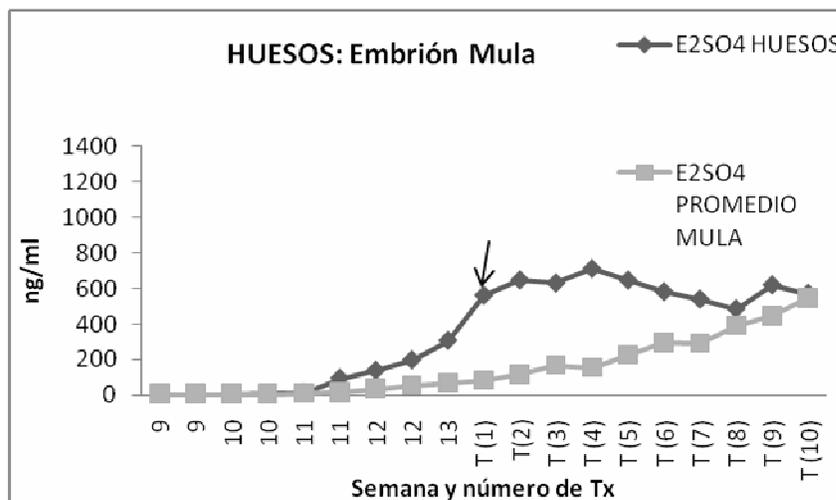
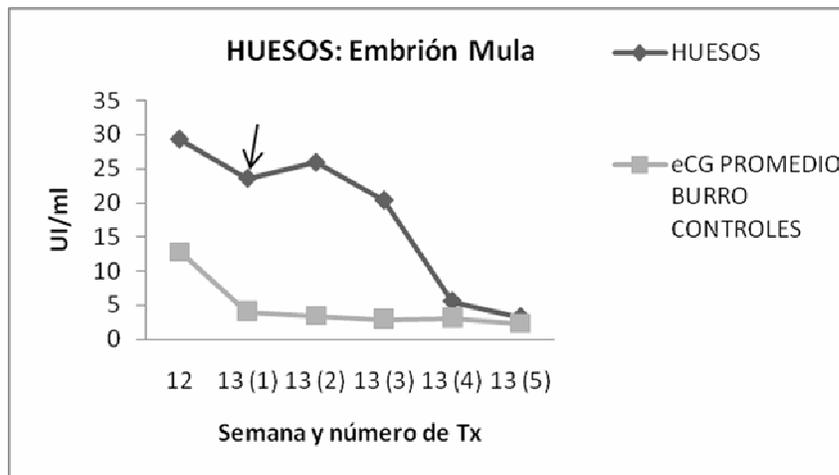
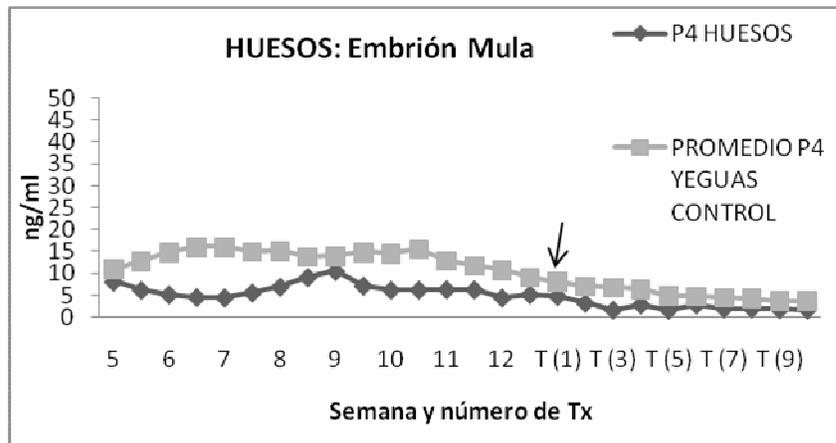


**Gráfica 15.** Yegua: Pelos. Concentraciones de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la PGF<sub>2</sub>α. Nótese que los niveles de P<sub>4</sub> antes de aplicar el tratamiento con PGF<sub>2</sub>α se comporta un poco más inestable que las del grupo control; sin embargo, pelos tuvo valores más altos de eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> que en el grupo control.

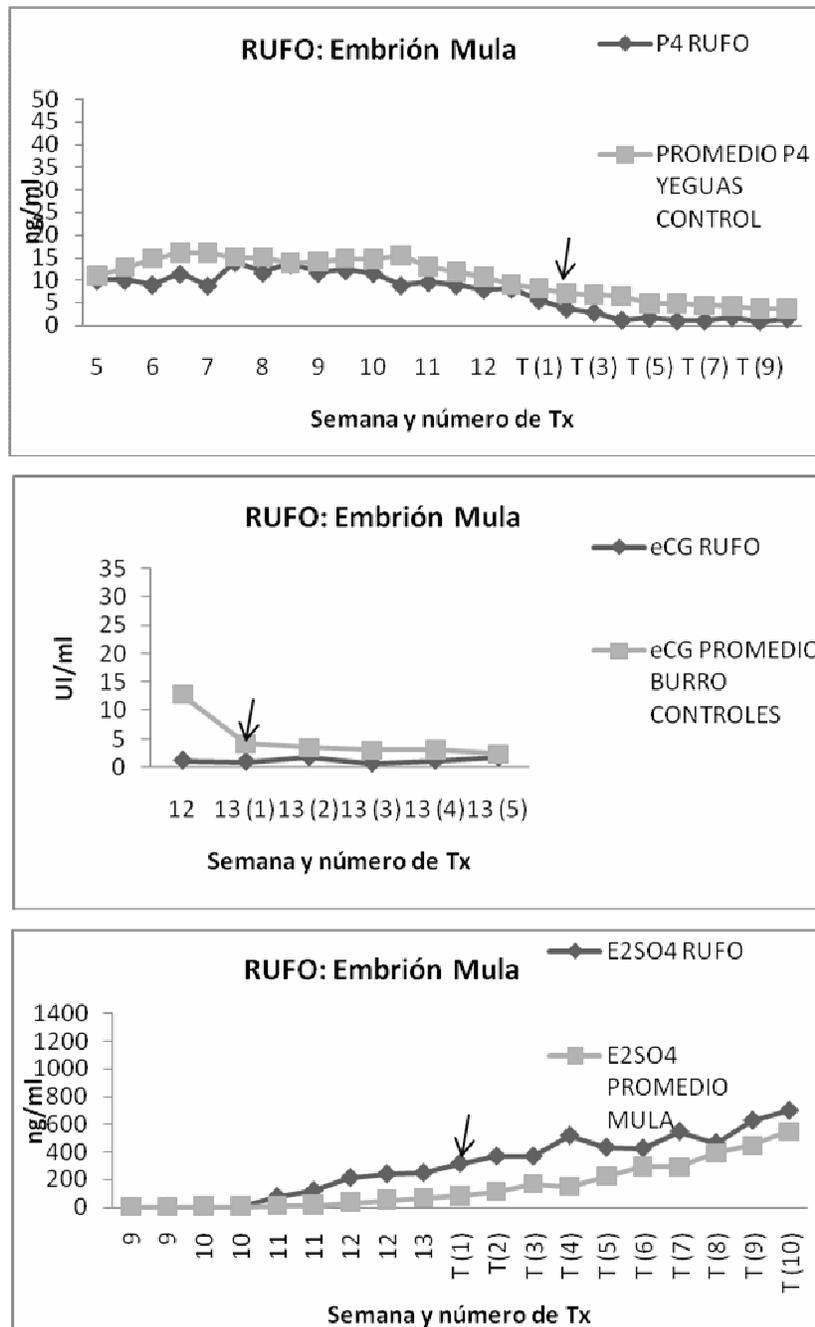
## 9.2 YEGUAS GESTANTES CON EMBRIÓN MULA EXPERIMENTALES.



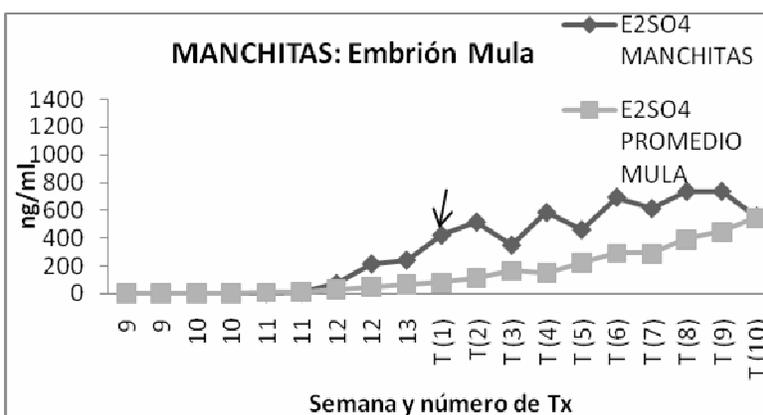
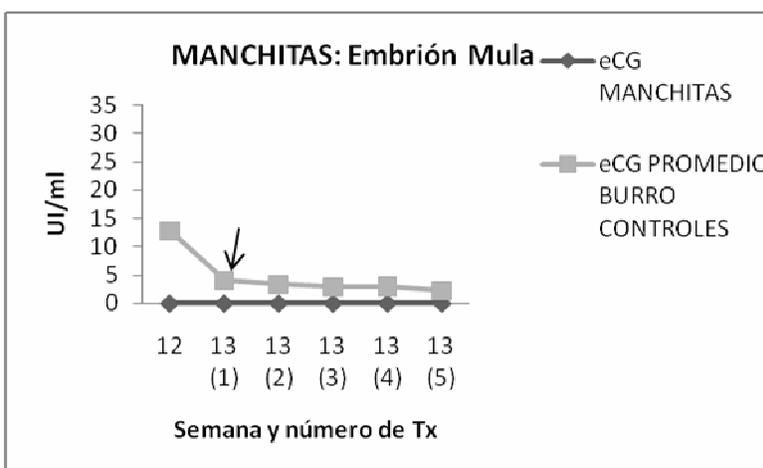
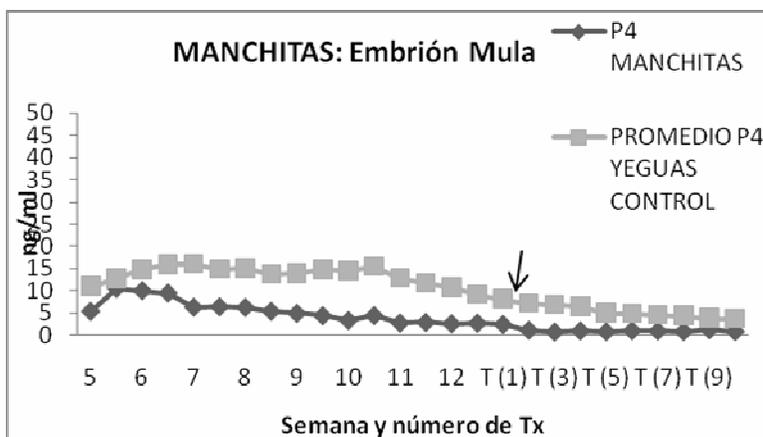
**Gráfica 16.** Yegua: Candela (aborto). Concentraciones de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en diferentes semanas de la gestación. La primera flecha indica el momento en que se aplicó la PGF2 $\alpha$ . La segunda flecha indica el momento en que ya no se detectó latido cardíaco y la tercera flecha indica el momento en que se produjo el aborto. Nótese que los niveles de P<sub>4</sub> antes de aplicar el tratamiento con PGF2 $\alpha$  son más bajos que las de su grupo control no así en la E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se observa que 12 horas después de la aplicación de la PGF2 $\alpha$  los niveles de P<sub>4</sub> van disminuyendo sus niveles paulatinamente, mientras que para el caso de la E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sus niveles bajan drásticamente. Para el caso de la eCG sus niveles son casi indetectables desde antes de haber aplicado la PGF2 $\alpha$ .



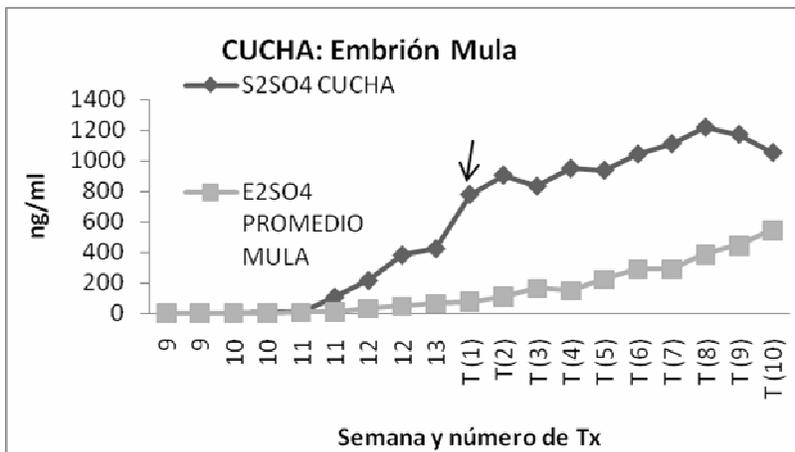
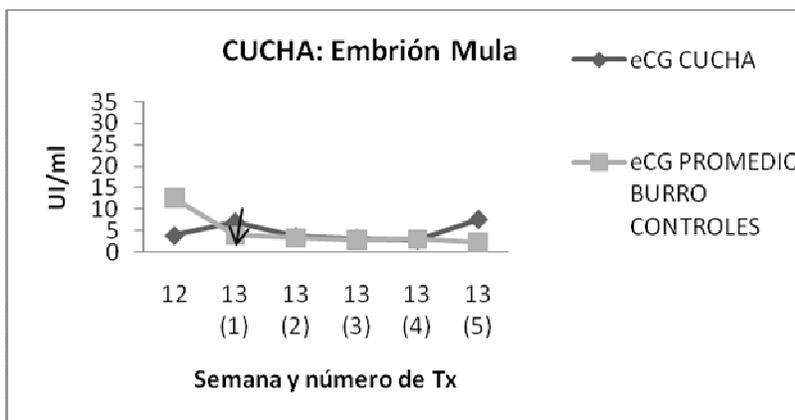
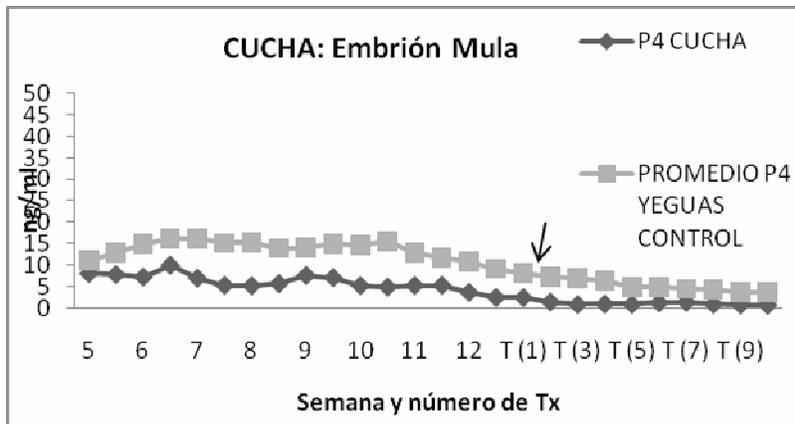
**Gráfica 17.** Yegua: Huesos. Concentraciones de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la PGF<sub>2</sub>α. Nótese que los niveles de P<sub>4</sub> antes de aplicar el tratamiento con PGF<sub>2</sub>α se son más bajos que las del grupo control; sin embargo, los niveles tanto de eCG como de E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> fueron superiores.



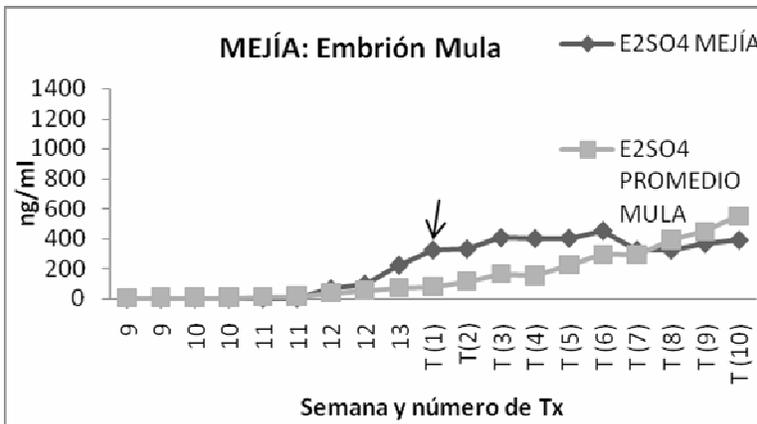
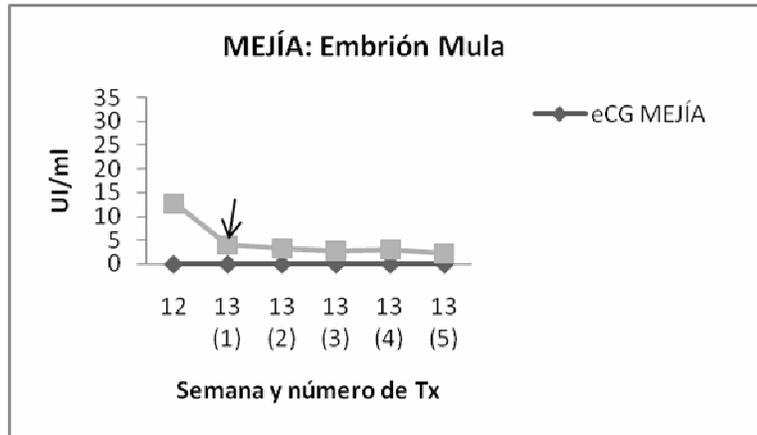
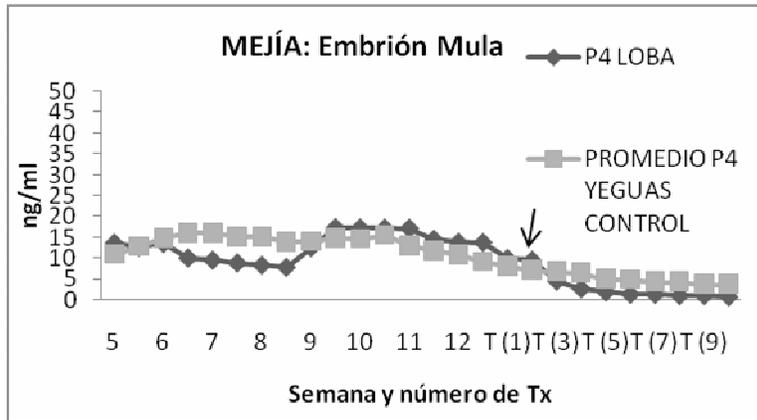
**Gráfica 18.** Yegua: Rufo. Concentraciones de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la PGF2 $\alpha$ . Nótese que los niveles de P<sub>4</sub> antes de aplicar el tratamiento con PGF2 $\alpha$  se son ligeramente más bajos que las del grupo control; sin embargo, los niveles de eCG son muy bajos; los niveles de E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> fueron superiores al grupo control.



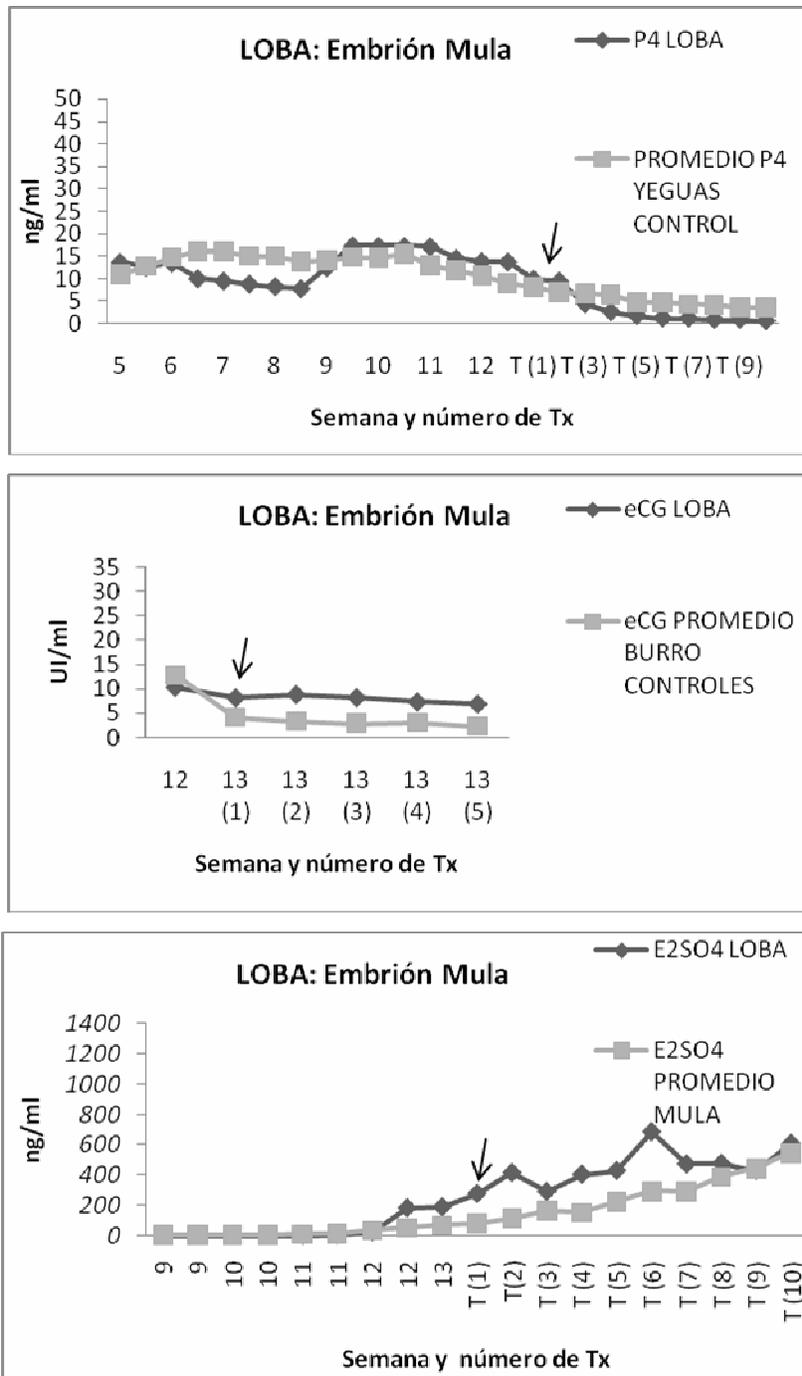
**Gráfica 19.** Yegua: Manchitas. Concentraciones de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la PGF2 $\alpha$ . Nótese que los niveles de P<sub>4</sub> antes de aplicar el tratamiento con PGF2 $\alpha$  se son más bajos que las del grupo control; los niveles de eCG ya no fueron detectados; y los niveles de E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> fueron superiores al grupo control, después de la semana 12 de la gestación.



**Gráfica 20.** Yegua: Cucha. Concentraciones de  $P_4$ , eCG y  $E_2SO_4$  en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la  $PGF_{2\alpha}$ . Nótese que los niveles de  $P_4$  antes de aplicar el tratamiento con  $PGF_{2\alpha}$  siempre fueron más bajos que las del grupo control; los niveles de eCG al momento de aplicar la  $PGF_{2\alpha}$  fueron casi idénticos; y los niveles de  $E_2SO_4$  fueron superiores al grupo control, después de la semana 11 de la gestación.



**Gráfica 21.** Yegua: Mejía. Concentraciones de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la PGF2 $\alpha$ . Nótese que los niveles de P<sub>4</sub> antes de aplicar el tratamiento con PGF2 $\alpha$  fueron más inestables que las del grupo control; los niveles de eCG al momento de aplicar la PGF2 $\alpha$  fueron ya nulos; y los niveles de E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> fueron superiores al grupo control, después de la semana 12 hasta el día 7 del tratamiento de la gestación.



**Gráfica 22.** Yegua: Loba. Concentraciones de P<sub>4</sub>, eCG y E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en diferentes semanas de la gestación. La flecha indica el momento en que se aplicó la PGF2 $\alpha$ . Nótese que los niveles de P<sub>4</sub> antes de aplicar el tratamiento con PGF2 $\alpha$  fueron ligeramente superiores a las del grupo control; los niveles de eCG fueron superiores desde la semana 13 y los niveles de E<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> fueron superiores al grupo control, después de la semana 12 hasta de la gestación.

## VIII. DISCUSIÓN.

Está bien establecido que la PGF2 $\alpha$ , provoca luteólisis tanto en yeguas gestantes como en yeguas no gestantes (Witherspoon *et al.*, 1975), ya sea para acortar el diestro en un ciclo normal, o para incluso inducir el aborto en diferentes etapas de la gestación (Wüstenhagen, 2002); se tiene bien establecido que alrededor del 10 al 15% de los abortos naturales que ocurren en yeguas, se encuentran dentro de los primeros 40 días de la gestación (Rathwell *et al.*, 1987), en donde el cuerpo lúteo es la única fuente de progesterona durante esta etapa (Allen *et al.*, 2001).

Los niveles de P<sub>4</sub> tanto en yeguas gestantes con embrión caballo como en yeguas gestantes con embrión mula, comenzaron a elevar sus niveles desde la semana 5 de la gestación, coincidentemente cuando la eCG comienza a secretarse en la circulación de las yeguas (Bergfelt *et al.*, 1989), los niveles de esta hormona fueron encontrados como en otras investigaciones tanto en yeguas gestantes con embrión caballo (Nett *et al.*, 1975 y Allen, 1984), como en yeguas gestantes con embrión mula (Allen, 1982; Allen *et al.*, 1993a). La aplicación exógena de 5 mg (1 ml) de PGF2 $\alpha$  en el día 90 de la gestación, tanto en yeguas experimentales gestantes con embrión de caballo como en yeguas experimentales gestantes con embrión mula afectó los niveles de P<sub>4</sub>, ya que 12-24 horas posteriores a su aplicación, los niveles de esta hormona descendieron (Leeuwen *et al.*, 1983). En otros trabajos se han reportado descenso en los niveles de P<sub>4</sub> cuando la PGF2 $\alpha$  es aplicada en yeguas desde el día 80 hasta el día 102 de la gestación (Daels *et al.*, 1995). En este estudio solo se registro un solo aborto en el grupo experimental de yeguas gestantes con embrión mula: Candela (gráfica 16), la cual horas antes de aplicar endógenamente la PGF2 $\alpha$  mostraba niveles de 9.43 ng/ml de P<sub>4</sub> y tan solo 48 horas posteriores a la aplicación del tratamiento, sus niveles de P<sub>4</sub> descendieron hasta 0.72 ng/ml; sin embargo, fue hasta el día 5 después de la aplicación de la prostaglandina, cuando ya no se detectó por medio del ultrasonido la presencia de latido cardiaco en el feto y 12 horas posteriores a esta observación, la yegua lo abortó; sin embargo otras yeguas del mismo grupo experimental (Manchitas, gráfica 19; Cucha, gráfica 20 y Loba, gráfica 22),

también presentaron niveles por debajo de 1 ng/ml de  $P_4$  y no abortaron; pero los niveles de  $E_2SO_4$  se mantuvieron estables, indicando con esto la presencia de viabilidad fetal; no así para el caso de Candela. Las concentraciones de eCG para el grupo de yeguas gestantes con embrión mula ya comenzaban a descender sus niveles desde la semana 10, a comparación con el grupo de yeguas gestantes con embrión caballo donde sus niveles todavía eran más altos y estables. Es importante aclarar que los niveles de eCG en el grupo experimental de yeguas gestantes con embrión mula, ya mostraban niveles bajos, esto debido a la destrucción natural de las copas endometriales (Camillo *et al.*, 2003). Para el caso de la eCG muchas de las yeguas gestantes con embrión mula, ya registraban niveles muy por debajo a los 5 ng/ml, lo que demuestra como se ha establecido anteriormente que existe un rechazo inmunológico desde el día 50 de la gestación hasta desaparecer por completo las copas endometriales en el día 80-90 de la preñez (Boeta y Zarco, 2005); mientras que para el caso de yeguas gestantes con embrión caballo el rechazo inmunológico de estas copas comienza aproximadamente en el día 80 de la gestación, desapareciendo por completo alrededor del día 120 de la preñez (C. Samper *et al.*, 2007), por lo que tenían un soporte luteotrópico de mayor duración (Saint-Dizier, 1003), debido a esto no se esperaba la presencia de ningún aborto a comparación de las yeguas servidas con embrión mula. En el grupo experimental de yeguas gestantes con embrión caballo solo se vieron afectados los niveles de  $P_4$ , ya que tanto eCG como  $E_2SO_4$ , mostraron niveles estables y hasta en ocasiones más elevados que el promedio de su grupo control posterior a la aplicación del tratamiento. En otros estudios se ha demostrado el poder luteolítico de la  $PGF2\alpha$  cuando es aplicada cada 6-12 horas, terminando con la preñez 15-85 horas posteriores a su administración (Leeuwen *et al.*, 1983). Se ha reportado que una sola inyección de prostaglandina a una dosis de 2.5 mg indujo el aborto en 2 de 3 yeguas a las que se les aplicó el tratamiento en donde sus niveles disminuyeron de 25 ng/ml a 11 ng/ml, en el día 70 al 90 de la gestación (Douglas *et al.*, 1974). Candela al momento de aplicarle la  $PGF2\alpha$ , ya presentaba niveles bajos de eCG (< 2 UI/ml), lo que indica que ya estaba por finalizar la destrucción natural de sus copas endometriales y el cese en

el plasma sanguíneo de los niveles de gonadotropina coriónica equina (eCG) (Camillo *et al.*, 2003), por lo que se supondría que la placenta se haría cargo del soporte luteotrópico hasta llegar al parto. Se han detectado niveles de eCG en el día 50 al 80 de la gestación valores que van desde 140 UI/ml hasta 220 UI/ml (Kindahl *et al.*, 1982), como los encontrados en este trabajo. Al momento de aplicar la prostaglandina a la Candela (semana 13 de la gestación), esta mostraba niveles en  $E_2SO_4$  de 422 ng/ml y tan solo 12 horas posteriores a su tratamiento, sus niveles se fueron en picada hasta registrar 0 ng/ml, lo que indica la no presencia de viabilidad fetal, por lo que era inminente la muerte del feto. Ninguna yegua del grupo experimental tanto gestante con embrión caballo como gestante con embrión mula, a excepción de la Candela, registraron niveles de 0 ng/ml en  $E_2SO_4$ . Se ha establecido que alrededor del día 100 de la gestación, el córion-alantoides secreta una gran cantidad de progesterona y de progestágenos directamente del endometrio, por lo que los esteroides luteales son necesarios para mantener la gestación en los días 70-90 de la gestación (Saint-Dizier *et al.*, 2003); estos progestágenos son utilizados por la placenta para poder mantener la gestación, por lo que si no se produce gran cantidad de esta hormona el aborto es inminente (Allen *et al.*, 2001). Probablemente el córion-alantoides de la Candela en esta etapa de la gestación todavía no secretaba grandes cantidades de progesterona y aunado a la aplicación de la  $PGF2\alpha$ , fue inminente su aborto.

Se ha identificado que la concentración de progesterona sérica depende de la cantidad de tejido esteroideogénico, de su capacidad de secretar progesterona y del flujo sanguíneo; la cantidad de tejido esteroideogénico depende del número, así como del tamaño de las células esteroideogénicas luteales, las cuales, ambas, aumentan durante el desarrollo luteal (Niswender *et al.*, 2000), por lo que resulta importante hacer énfasis en que cada yegua tiene su propia sensibilidad a la acción luteolítica que ejerce la  $PGF2\alpha$  y se confirma que la yegua es la especie doméstica más sensible a los efectos agudos de este fármaco (Wüstenhagen, 2002).

El feto abortado (ANEXO) por parte de la yegua Candela, fue llevado al Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM, donde se le aplicó una evaluación

patológica para descartar cualquier otra causa que no fuese por parte de los efectos luteolíticos de la PGF2 $\alpha$ , como producción de endotoxinas como bacterias gramnegativas, lo cual pudiese elevar las concentraciones de la PGF2 $\alpha$  circulante resultando en una luteólisis (Daels *et al.*, 1987), lo cual fue negativo ya que el resultado mostró que no existió evidencia de procesos inflamatorios y/o traumáticos asociados a la muerte del animal, pudiéndosele atribuir el aborto al efecto luteolítico de la PGF2 $\alpha$ .

## **IX. CONCLUSIONES.**

En este trabajo de investigación se concluye que una sola dosis de 5 mg (1 ml) de PGF2 $\alpha$  administrada en el día 90 de la gestación, es capaz de descender los niveles de P<sub>4</sub> 12-24 horas posteriores a su administración, siendo mucho más sensibles en esta etapa, las yeguas gestantes con embrión mula a comparación de las yeguas gestantes con embrión de caballo.

## X. LITERATURA CITADA.

Acosta T. J., Utt M. D., Wiltbank M. C. y Ginther O. J. Acute effects of prostaglandinF2 $\alpha$  on systemic oxytocin and progesterone concentrations during the mid-or late luteal phase in mares. *Animal Reproduction Science* 2007; 97 (1/2): 63-73.

Ahmadi M. R., Kafi M. y Aghil A. K. Effect of isoflupredone acetate on ovulation and oestrous cycle in the mare. *Journal of Applied Animal Research* 2000; 18 (2): 171-175.

Albrecht B. A., McLeod J. N. y Daels P. F. Expression of 3-beta hydroxysteroid deshydrogenase, cytochrome P450 17-alfa hidroxylase /17,20-lyase and cytochrome P450 aromatase enzymes in corpora lutea of diestrous and early pregnant mares. *Theriogenology* 2001; 55 (2): 555-561.

Alcántara B, Boeta M. y Porras A. Luteolysis, Estrus induction, and clinical Side Effects in Mares Treated with a PGF2 $\alpha$  Analog, Cloprostenol (Sinocrel 11-219 *Journal if Equine Veterinary Science* 2005; 25 (9): 384-386.

Alvarenga M. A., Ferreira J., Meira C., Luna S. y Burns P. J. Induction of luteolysis in mares utilizing a micro-dose of prostaglandin F2 $\alpha$  in the sacra lumbar space. *Journal of Equine Veterinary Science* 1998; 18 (3): 167-168.

Allen W. R. and Hadley J. C. Blood progesterone concentrations in pregnant on non-pregnant mares. *Equine Veterinary Journal* 1974; 6 (2): 87-93.

Allen W. R. Inmunological aspects of the endometrial cup reaction and the effect of xenogeneic pregnancy in horse and donkeys. *J. Reprod. Fert. Suppl* 1982; 31: 57-94.

Allen W. R.. Hormonal control of early pregnancy of the mare. *Animal Reproduction Science*. 1984, 7: 269-282.

Allen W. R., Kydd J. H., Boyle M. S. y Antczak D. F. Extraspecific donkey-in-horse pregnancy as a model of early fetal death. *J. Reprod. Fert.* 1987; Suppl 35: 197-209.

Allen W. R. y Stewart M. J. Equine Chorionic Gonadotropin in: McKinnon A. O. y Voss, J.L. *Equine Reproduction*. Lea and Febiger. Philadelphia, 1993. Pp. 81-96.

Allen W. R.; Kidd J. H. y Antezak D. F. Interespecies and extraespecies equine pregnancies. In: McKinnon, A. O. and Voss J. L. *Equine Reproduction*. Lea and Febiger. Philadelphia. 1993a. pp. 536-553.

Allen W. R. Luteal Deficiency and Embryo Mortality in the Mare. *Reprod Dom Anim* 2001; 36: 121:131.

Allen W. R. Fetomaternal Interactions and Influences during Equine Pregnancy. *Reproduction* 2001; 121: 513-527.

Amir D. y Gacitua H. The effect of artificial light, hormones and rams on the reproductive performance of Finn-cross ewes during the seasonal anoestrus in Israel. *Journal of Agriculture Science* 1985; 105 (2): 375-379.

Ataman, M. B., Baran A., Gunay U., Gunay A., Seyrek-Intas K. y Uzman M. Oestrus detection with rectal palpation, ultrasonography and rapid progesterone assay in mares. *Uludag Universitesi* 1999; 18 (3): 139-147.

Ball B. A. An update on reproductive physiology of the mare. *Ippologia*: 2005; 16 (1): 23-29.

B. A. Myriam. Tesis: Estudio Sobre la Mortalidad Embrionaria por Regresión Prematura de las Copas Endometriales en Yeguas Utilizadas para la Producción de Mulas. FMVZ-UNAM. 1996.

Boeta M. y Zarco L. Progesterone and equine chorionic gonadotropin concentrations around the time of pregnancy loss in mares impregnated by donkeys or stallions. *Journal of Equine Veterinary Science* 2005; 25 (12): 531-538.

Belin F., Goudet G., Duchamp G. y Gerard N. Intrafollicular concentrations of steroids and steroidogenic enzymes in relation to follicular development in the mare. *Biology of Reproduction* 2000; 62 (5): 1335-1343.

Bergfelt D. R., Pierson R. A. y Ginther O. J. Resurgence of the primary corpus luteum during pregnancy in the mare. *Animal Reproduction Science* 1989; 21 (3/4): 261-270.

Boerboom D. y Sirois J. Equine P450 cholesterol side-chain cleavage and 3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase/Delta<sup>5</sup>-Delta<sup>4</sup> isomerase: molecular cloning and regulation of their messenger ribonucleic acids in equine follicles during the ovulatory process. *Biology of Reproduction* 2001; 64 (1): 206-215.

Bokor A., Csicsek A., Hecker W., Stefler J. y Petrovics E. Inducing earlier cycling of mares using artificial light programme (a review). *Acta Agraria Kaposvariensis* 2005; 7 (2): 1-8.

C. Samper Juan, F. Pycock Jonathan y o. Mckinnon Angus. *Current Therapy in: Equine Reproduction*. 2007. USA pp. 397-398.

Bearden Joe H. y Fuquay John. 1995. *Reproducción Animal Aplicada*. Ed. El Manual Moderno. Bogotá, Colombia.

Camillo F., Marmorini P., Romagnoli S., Vanzozi I., Bagliacca M. Fertility at the first post partum estrous compared with fertility at the following estrous cycles in foaling mares and with fertility in nonfoaling mares. *Journal of Equine Veterinary Science* 1997; 17 (11): 612-616.

Camillo F., Vanzozi I., Rotta A., Luzio B., Romagnoli S., Aria G. y Allen W. R. Successful non-surgical transfer of horse embryos to mulerecipients. *Reproduction in Domestic Animals* 2003; 38 (5): 380-385.

Couture L., Lemonnier J. P., Robert P y Bidart J. M. Immunochemical studies of equine chorionic gonadotropin (eCG) and its subunits. *Pratique Veterinaire Equine* 1994; 26 (2): 121-127.

Daels P. F., Starr M., Kindahl H., Fredrikson G., Hughes J. P. y Stabenfeldt G. H. Effect of *Salmonella typhimurium* endotoxin on PGF<sub>2</sub> $\alpha$  release and fetal death in the mare. *Journal Reproduction Fertility*. 1987 supp 35: 485-492.

Daels P. F., Stabenfeldt G. H., Kindahl H. y Hughes J. P. Prostaglandin release and luteolysis associated with physiological and pathological conditions of the reproductive cycle of the mare: a review. *Equine Veterinary Journal* 1989; suppl 8: 29-34.

Daels P. F., Albrecht B. A. y Mohammed H. O. In vitro regulation of luteal function in mares. *Reproduction in Domestic Animals* 1995; 30 (4): 211-217.

Daels P. F., Mohammed Hussni, Montavon S. M. N., Stabenfeldt G. H., Hughes J. P, Odensvik Kristina y Kindahl H. Endogenous prostaglandin secretion during cloprostenol-induced abortion in mares. *Animal Reproduction Science* 1995; 40: 305-321.

Daels P. F., Chang G. C., Hansen B. y Mohammed H. O. Testosterone secretion during early pregnancy in mares. *Therogenology* 1996; 45 (6): 1211-1219.

Daels P. F., Albrecht B. A. y Mohammed H. O. Equine chorionic gonadotropin regulates luteal steroidogenesis in pregnant mares. *Biology of Reproduction* 1998; 59 (5): 1062-1068.

Daels F., Meter. 2004. Hormonal Therapy in Pregnant Mare. 10<sup>o</sup> Congresso Nazionale Multisala Sive. Perugia, 31 Gennaio-1 Febbraio.

Douglas R. H. y Ginther, O. J. Effect of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  on length of diestrus in mares. *Prostaglandins* 1972; 2:265-268.

Dalpathado D. S., Irungu J., Go E. P., Butney V. Y., Norton K., Bousfield G. R. y Desaire H. Comparative glycomics of the protein follicle stimulating hormone:

glycopeptides analysis of isolates from two mammalian species. American Chemical Society 2006; 45 (28): 8665-8673.

Donadeu F. X. y Watson E. D. Seasonal changes in ovarian activity: lessons learnt from the horse. Animal Reproduction Science 2007; 100 (3/4): 225-242.

Douglas R. H., E. L. Squires y O. J. Ginther. Induction of abortion in mares with prostaglandin. J. of Anim Sci. 1974; 39 (2).

Douglas R. H. y Ginther O. J. Route of prostaglandin F2 $\alpha$  injection and luteolysis in mares. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1975; 148: 263-269.

Enbergs H., Lotzemer-Jentges K., Gentz H. y Sommer H. Control of the luteolytic effect of a new prostaglandin F2 $\alpha$ -analogue during the treatment of anoestrous and dyscyclic mares with continuous measurements of the progesterone level in the blood plasma. Zuchthygiene 1978; 13 (4): 152-160.

Evans J. W., Hughes J. P., Neely P. D., Stabenfeldt G. H. y Winget C. M. Episodic LH secretion patterns in the mare during the oestrous cycle. Journal of Reproduction and Fertility 1979; suppl 27: 143-150.

Ferrerira-Dias G. y Mateus L. The equine cyclic corpus luteum: microvascularization, luteal cells characterization and function. Pferdeheilkunde 2003; 19 (6): 585-588.

Ferreira-Dias G., Bravo P. P., Mateus L., Redmer D. A. y Madeiros J. A. Microvascularization and angiogenic activity of equine corpora lutea throughout the estrous cycle. Domestic Animal Endocrinology 2006; 38 (4): 350-353.

Ferreria-Dias G., Mateus L., Costa A. S., Sola S., Ramalho R. M., Castro R. E. y Rodriguez C. Progesterone and caspase-3 activation in equine cyclic corpora lutea. Reproduction in Domestic Animals 2007; 42 (4): 380-386.

Fitzgerald B. P., l'Anson H., Legan S. J. y Loy R. G. Changes in patterns of luteinizing hormone secretion before and after the first ovulation in the postpartum mare. Biology of Reproduction 1985; 33 (2): 316-323.

Gigli I, Russo A. y Aguero A. Consideraciones sobre la dinámica ovárica en Equino, Bovino y Camélidos Sudamericanos. Artículo de Revisión. In Vet 2006; 8 (1): 183-204.

Ginther O. J. Reproductive Biology of the Mare. McNaughton and Gunn, Ann Arbor, MI, 1979; p. 268.

Ginther O. J., Beg M. A., Gastal M. O. y Gastal E. L. Follicle dynamics and selections in mare. Animal reproduction (Belo Horizonte) 2004; 1 (1): 45-63.

Ginther O. J., Utt M. D., Bergfelt D. R. y Beg M. A. Controlling interrelationships of progesterone/LH and estradiol/LH in mares. *Animal Reproduction Science* 2006; 95 (1/2): 144-150.

Ginther O. J., Gastal E. L., Utt M. O. y Beg M. D. Luteal blood flow and progesterone production in mares. *Animal Reproduction Science* 2007; 99 (1/2): 213-220.

Ginther O. J., Gastal E. L., Gastal M. O. y Beg M. A. Effect of PGF<sub>2</sub>α on ovarian, adrenal, and pituitary hormones and luteal blood flow in mares. *Domestic Animal Endocrinology* 2007; 32: 315-328.

Gomez R., Lima I., Simon C y Pellicer A. Administration of low-doses LH induces ovulation and prevents vascular hyperpermeability and vascular endothelial growth factor expression in super ovulated rats. *Reproduction* 2004; 127 (4): 483-489.

Guillaume D. y Palmer E. Effect of oral melatonin on the date of first ovulation after ovarian inactivity in mares under artificial photoperiod. *Journal of Reproduction and Fertility* 1991; suppl. 44: 249-257.

Hafez E. S. E. y Hafez B. *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. 2000. Séptima Edición. Mc Graw-Hill. USA pp. 46.

Handler J, Wüstenhagen Andrea, Schams Dieter, Kindahl Hans y Aurich Christine. Estrous Cycle characteristics, luteal function, secretion of oxytocin (OT) and plasma concentrations of 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α-metabolite) after administration of low doses of prostaglandin F<sub>2</sub>α in pony mares. *Theriogenology* 2004; 61: 1573-1582.

Henderson K., Stevens S., Bailey C., Hall G. Stewart J. y Wards R. Comparison of the merits of measuring equine chorionic gonadotropin (eCG) and blood and faecal concentrations of oestrone sulphate for determining the pregnancy status of miniature horses. *Reproduction, Fertility and Development* 1998; 10 (5): 441-444.

Izquierdo Córdova Alejandro. 2006. Factores relacionados con el aborto en yeguas. *REDVET*. Vol VII, No. 01.

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

Kaneko M., Y. I. Kaneda, Y. Watanabe y Taya K. Induction of estrus and promotion of fertility by prostaglandin F<sub>2</sub>α administration in mares. *Theriogenology* 1995; 6 (1): 7-14.

Kanitz W., Schneider F., Hopen H. O., Unger C., Nurnberg G. y Becker F. Pregnancy rates, LH and progesterone concentrations in mares treated with an GnRH agonist. *Animal Reproduction Science* 2007; 97 (1/2): 55-62.

Kooistra L. H. y Ginther O. J. Effect of photoperiod on reproductive activity and hair in mares. *American Journal of Veterinary Research* 1975; 36(10): 245-250.

Legardinier S., Duonor –Cerutti-M., Devauchelle G., Combarous y Cahoreau C. Biological activities of recombinant equine luteinizing hormone/Chorionic gonadotropin (eLH/CG) expressed in sF9 and Mimic insect cell lines. *Journal of Molecular Endocrinology* 2005; 34 (1): 47-60.

Levine H., Wight T. y Squires E. Ultrastructure of the Corpus Luteum of the Cycling Mare. *Biology of Reproduction* 1979; 20: 492-504.

Lofstedt, R. M. Termination of Unwanted pregnancy in the mare. In: Morrow, D. A. *Current Therapy in Theriogenology* 2. W. B. Saunder's Company, 1986 pp. 715-718.

McCue P. M., LeBlanc M. M. y Squires E. L. FSH in Clinical Equine Practice. *Theriogenology* 2007; 68 (3): 429-433.

McKinnon A. O., Nobelious A. M., Hyland J. H. y Vasey J. R. Ability of progestins to maintain pregnancy in the mare. *Australian Equine Veterinarian* 1992; (5): 257-262.

Madej A., Kindahl, C. Nydahl, L.-E. Edqvist y D. R. Stewart. Hormonal Changes associated with induced late abortions in the mare. *J. Reprod. Fert.* 1987; suppl. 35: 470-484.

Martin J. C., Klug E., Merkt H., Himmler V. y Jöchle W. Luteolysis and cycle synchronization with a new prostaglandin analog for artificial insemination in the mare. *Theriogenology* 1981; 16 (4): 433-446.

Meenakshi V. G. y Garg S. K. Determination of gestation period of mare with maximum eCG concentration by bioassay. *Indian Journal of Animal Research* 2006; 40 (1): 25-29.

Mina C. G. y Davies Morel. *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management*. Farming press, NY, USA, 1993. pp 33-46.

Murphy Bruce y Martinuk Susan. Equine Chorionic Gonadotropin. *Endocrine Reviews* 1991; 12 (1): 27-44.

Nett T. M., Holtan D. W. y Estergreen V. L. Oestrogens, JH; PMSG and Prolactin in serum of pregnant mares. *Journal Reproduction Fertility* 1975, suppl 23: 457-462.

Neely P. D., Kindahl H., Stabenfeldt G. H., Edqvist L. E. y Hughes J. P. Prostaglandin release patterns in the mare: physiological, pathophysiological, and therapeutic responses. *Journal of Reproduction and Fertility* 1979; suppl 27: 181-189.

Neely P. Dean e Irwin K. M. *Reproducción Equina*. 1990. Ed. Agropecuaria Hemisferio Sur. Uruguay.

Nequin L. G., King S. S., Matt K., Jurak R. C. The influence of photoperiod on gonadotrophin-releasing hormone stimulated luteinizing hormone release in the anestrus mare. *Equine Veterinary Journal* 1990; 22 (5): 356-358.

Niswender D. Gordon, Juengel I. Jennifer, Silva J. Patrick, Rollyson Keith M. y McIntush W. Eric. Traducido por Mario Espinoza: Mecanismos que Controlan la Función y el Periodo de Vida del Cuerpo Lúteo. *Physiological Reviews* 2000; 80 (1): 1-28.

Ousey J. C. Fowden A. L., Rossdale P. D., Grainger L y Houghton E. Plasma progesterone as markers of foeto-placental health. *Pferdeheilkunde* 2001; 17 (6): 574-578.

Ousey J. C. Forhead A. J., Rossdale O. D., Grainger L, Houghton E. y Fowden A. L. Ontogeny of uteroplacental progesterone production in pregnant mares. *Biology of Reproduction* 2003; 69 (2): 540-548.

Ousey J. C., Houghton E., Grainger L., Rossdale P. D. y Fowden A. L. Progesterone profiles during the last trimester of gestation in Thoroughbred mares with normal or compromised pregnancies. *Theriogenology* 2005; 63 (7): 1844-1846.

Oxender D. W., Noden A. P., Louis T. M. y Hafs D. H. A review of Prostaglandin F<sub>2α</sub> for ovulation control in cows and mares. *Am J. Vet. Res.* 35 (7): 997-1001.

Papkoff H., Bewlwy T. A. y Ramachandran J. Physicochemical and biological characterization of pregnant mare serum gonadotropin and its subunits. *Biochim Biophys Acta* 1978; 532: 185.

Pattison M. L., Chen C. L., Kelley S. T. y Brandt G. W. Luteinizing hormone and estradiol in peripheral blood of mares during estrous cycle. *Biology of Reproduction* 1974; 11 (3): 245-250.

Plata-Madrid H., Youngquist R. S., Murphy C. N., Bennet-Winbush K., Braun W. F. y Loch W. E. Ultrasonographic characteristics on the follicular and uterine dynamics in Belgian mares. 1994; 14 (8): 421-423.

Pope M. A., Guthrie H. D., McCall J. P. y Stroud H. B. Luteal progesterone and prostaglandin F2 $\alpha$  production in vitro during fluprostenol-induced luteolysis in the mare. *Theriogenology* 1983; 19 (3): 413-423.

Purohit G. N., Sharma B. S. y Gupta K. A. Reproductive Performance and disorders in mare. *Indian Journal of Animal Science* 1999; 69 (6): 398-399.

Rathwell A. C., Asbury A. C., Hansen P. J. y Archbald L. F. Reproductive Function of Mares given daily injections of prostaglandin F2 $\alpha$  beginning at day 42 of pregnancy. *Theriogenology* 1987; 27 (4): 621-631.

Rodger F. E., Illingworth P. J. y Watson E. D. Immunolocalization of P450c17 in the Mare Corpus Luteum. *Theriogenology* 1998; 50: 321-333.

Roser J. F. y Lofstedt R. M. Urinary eCG patterns in the mare during pregnancy. *Theriogenology* 1989; 32 (4): 607-622.

Saint-Dizier M., Chopineau N., Dupont J., Daels P. y Combarous C. Hormone Chorionic/Gonadotropin receptors in the primary corpus luteum during early pregnancy in the mare. *Biology of Reproduction* 2003; 69: 1743-1749.

Saint-Dizier M., Foulon Gauze., Lecompte F., Combarous Y. y Chopineau M. Cloning and Functional Expression of the equine luteinizing hormone/chorionic gonadotrophin receptor. *Journal of Endocrinology* 2004; 183 (3): 551-559.

Scharwz T., Murawski M., Wierzchos E. y Tuz R. Effect of cloprostenol, FGA and PMSG on ovarian follicular dynamics in ruminants. *Poland* 2007; 63 (3): 340-343.

Silver M, Barnes R. J., Comline R. S., Fowden A. L., Clover L. y Mitchell M. D. Prostaglandins in maternal and fetal plasma and in allantoic fluid during the second half of gestation in the mare. *J. Reprod. Fert. Suppl* 1979; 27: 531-539.

Squires E. L., Hillman R. B., Pickett B. W. y Nett T. M. Induction of abortion in mares with Equimate: Effect on secretion of progesterone, PMSG and reproductive performance. *J. Anim. Sci.* 1980; 50:490-495.

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 D. R., Kindahl H., Stabenfeld G. H. y Hughes J. P. Concentrations of 15-cetodihidro PGF $_2\alpha$  in the mare during spontaneous and oxytocin induced foaling. *Equine Veterinary Journal* 1984; 16 (4): 270-274.

Stout T. A. E. y Allen W. R. Role of Prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus. *Reproduction* 2001; 121: 771-775.

Tortonesse D. J., Gregory S. J., Eagle R. C., Sneddon C. L., Young C. L. y Townsend L. The equine hypophysis: a gland for all seasons. *Reproduction Fertility and development* 2001; 13 (7/8): 591-597.

Toaff M. E., Schleyer H. y Strauss J. F. Metabolism of 25-hydroxycholesterol by rat luteal mitochondria and dispersed cells. *Endocrinology* 1989; 111 (6): 1785-1790.

Utt D. M, Acosta J. T. Wiltbank C. M. y Ginther J. O. Acute effects of prostaglandin F<sub>2α</sub> on systemic oxytocin and progesterone concentrations during the mid-or late-luteal phase in mares. *Animal Reproduction Science* 2007; 97: 63-73.

Vanderwall K. D., Betschart W. R. y Squires E. L. Effect of PGF<sub>2α</sub> and 13,14 dihidro-15-keto-PGF<sub>2α</sub> on corpora luteal function in nonpregnant mares. *Theriogenology* 1999; 53: 1263-1271.

W. van Leewen, P. A. Noden y S. J. Dieleman. Induced abortion with two Prostaglandin F<sub>2α</sub> analogues in mares: plasma progesterone changes. *Veterinary Quarterly* 1983; Vol. 5 No. 3.

Witherspoon M. D., Lamond R. D., Thompson N. F. y Stevenson W. Efficacy of prostaglandin analogue in reproduction in the cycling mare. *Theriogenology* 1975; 3 (1): 21-31.

Wooding F. B. P., Morgan G., Fowden A. L. y Allen W. R. A structural and immunological study of chorionic gonadotrophin production by equine trophoblast girdle and cups cells. *Placenta* 2001; 22 (8/9): 749-767.

Wüstenhagen A, Handler J, Kindahl H y Aurich C. Luteal. Function and estrous cycle characteristics in mares treated with subtherapeutic doses of prostaglandin F<sub>2α</sub>. *Theriogenology* 2002; 58: 537-539.

Zarco L. y Boeta M. *Reproducción Equina*. 2000. Tercera edición. UNAM. México pp.13.

Zelly R., Sylla L., Monaci M., Stradaiol G., Sibley L. E., Roser J. F., Munro C. y Liu I. Gonadotropin secretion and pituitary responsiveness to GnRH in mares with granulosa-theca cell tumor. *Theriogenology* 2006; 66 (5): 1210-1218.

### **III. ANEXOS.**