

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**TERAPIAS HORMONALES UTILIZADAS EN REPRODUCCION ASISTIDA DE LA
YEGUA CICLICA**

“por”

Eloisa BERRUTTI

TESIS DE GRADO presentada como
uno de los requisitos para obtener el
título de Doctor en Ciencias Veterinarias

Orientación: Producción animal

MODALIDAD: Monografía

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2022**

PAGINA DE APROBACION

Tesis de grado aprobada por:



Presidente de mesa:

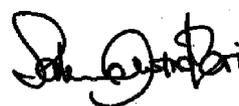
Nicolás Cazales Penino

Segundo miembro (Tutor):



María José Estradé

Tercer miembro:



Sabrina Castro Peri

Fecha:

Autores:

Eloísa Berrutti

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecer a mi familia por el apoyo incondicional.

Agradezco especialmente a mi tutora María José Estradé por aceptar mi propuesta, y siempre estar a disposición.

Agradezco al personal de la biblioteca, quienes me ayudaron con la búsqueda de material.

TABLA DE CONTENIDO

Contenido	
PAGINA DE APROBACION.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
TABLA DE CONTENIDO	4
TABLA DE FIGURAS.....	6
RESUMEN	7
SUMMARY	8
TABLA DE ABREVIATURAS	9
INTRODUCCIÓN.....	10
FISIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA YEGUA.....	11
Fases del ciclo reproductivo anual de la yegua	12
Transición de otoño	12
Anestro invernal	13
Transición de primavera	13
Fase ovulatoria o cíclica	14
Fase folicular o estro	15
Ondas foliculares.....	15
Crecimiento, selección y divergencia folicular	16
Características ecográficas del folículo preovulatorio.....	18
Ovulación	18
Características de una yegua en estro	19
Fase lútea o diestro	19
Luteólisis.....	20
Características de una yegua en diestro.....	20
CARACTERÍSTICAS DE LAS HORMONAS NATURALES Y SINTÉTICAS UTILIZADAS EN LA YEGUA..	21
PROSTAGLANDINAS.....	21
Prostaglandina F2α	21
HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROFINAS	21
GONADOTROFINAS	21
Gonadotrofinas recombinantes reFSH Y reLH	22
Gonadotrofina coriónica humana (hCG)	22
Extracto de pituitaria equina (EPE)	22

HORMONAS ESTEROIDEAS	23
Estrógenos (E2)	24
Progesterona (P4)	24
OXITOCINA	25
TERAPIAS HORMONALES.....	26
INDUCCION DE LA OVULACION	26
AGENTES INDUCTORES DE LA OVULACION	27
INDUCCIÓN DE LA LUTEOLISIS.....	31
Prostaglandina F2α y análogos	31
Lisis de un cuerpo lúteo persistente	32
PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO Y OVULACIÓN	32
Progestágenos	33
Combinación de Progesterona y estradiol	34
Prostaglandina F2α y sus análogos	35
SUPRESIÓN DEL ESTRO.....	35
Progesterona	35
Altrenogest	35
Oxitocina	36
INDUCCIÓN DE COMPORTAMIENTO DE ESTRO	36
Estrógeno (E2)	36
INDUCCION DE CONTRACTILIDAD UTERINA.....	37
Agentes ecbólicos.....	38
Oxitocina	38
Prostaglandina F2α	39
INDUCCIÓN DE MÚLTIPLES OVULACIONES	39
Fundamento de la técnica	40
Bases fisiológicas y momento ideal para iniciar la terapia para múltiples ovulaciones	41
Acetato de deslorelina (AD)	41
Gonadotrofinas recombinantes	41
Extracto de pituitaria equina (EPE)	42
Dificultades en la inducción de ovulaciones múltiples.....	42
CONCLUSION	43
BIBLIOGRAFIA.....	44

TABLA DE FIGURAS

FIGURA 1. Regulación hormonal del ciclo reproductivo de la yegua. (Extraído y modificado de: Brinsko et al, 2010)	12
FIGURA 2. Imagen característica de un corte transversal visto por ultrasonido de un ovario de yegua en transición. (Imagen extraída de Sharp, 2011)	13
FIGURA 3. Dinámica hormonal del ciclo reproductivo de la yegua (Adaptado de Aurich, 2011).....	14
FIGURA 4. Imágenes ultrasonográficas y endoscópicas de útero y ovario de yeguas en estro. (Imagen extraída de Paredes et al., 2012)	15
FIGURA 5. Ondas foliculares en el ciclo reproductivo de la yegua (Adaptado de Ginther, 2017).....	17
FIGURA 6. Corte transversal de ovario en el cual se aprecia un folículo preovulatorio. (Imagen extraída de Gastal & Ginther 2006)	18
FIGURA 7. Imagen ilustrativa del patrón hormonal y el crecimiento folicular durante el ciclo estal de la yegua (Adaptado de McCue, Scoggin & Lindholm, 2011)	19
FIGURA 8. Imágenes ultrasonográficas y endoscópicas de útero y ovario de yeguas en diestro. (Imagen extraída de Paredes et al., 2013)	20
FIGURA 9. <i>Esquema de la cadena de producción de las hormonas esteroideas. Imagen extraída y modificada de: Miller-Keane Encyclopedia and Dictionary of Medicine, Nursing, and Allied Health, 2021)</i>	24
FIGURA 10. Cuadro comparativo de los diferentes análogos de GnRH estudiados en los últimos años.....	31
FIGURA 11. Cuadro comparativo de las diferentes prostaglandinas y análogos presentes comercialmente en nuestro país.....	33
FIGURA 12. Diseño experimental realizado por Macedo & Reis (2020) de la combinación de P4 y E2.....	35
FIGURA 13. Tabla comparativa de los diferentes agentes ecbólicos disponibles.....	40
FIGURA 14. Cortes de ovarios de una yegua y de una mujer. Imagen comparativa. (Imagen extraída y modificada de Benammar et al., 2021)	41

RESUMEN

Existe una tendencia creciente en el mercado equino a la utilización de biotecnologías reproductivas, con el fin de mejorar la genética y los índices reproductivos de los criaderos, que incluyen uso de terapias hormonales. El presente trabajo tuvo como objetivo realizar una revisión de las últimas investigaciones sobre la utilización de las terapias hormonales para manipular el ciclo reproductivo de la yegua cíclica. Se incluye una revisión de la fisiología del ciclo reproductivo de la yegua, las características de cada hormona implicada en la reproducción equina, y la utilización de terapias hormonales. Se estudiaron con profundidad los usos de las diferentes hormonas que existen en la actualidad en el mundo, como ser la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y sus análogos, la gonadotropina coriónica humana (hCG), las prostaglandinas naturales y sintéticas (PG), la progesterona (P4) y los progestágenos, los estrógenos (E), la oxitocina (OX), el extracto de pituitaria equina (EPE), y las gonadotropinas recombinantes (reFSH y reLH). Los procedimientos estudiados incluyen la inducción de la ovulación, inducción de la luteólisis, sincronización de los ciclos, inducción y supresión del estro, inducción de la contractilidad uterina, e inducción de ovulaciones múltiples.

SUMMARY

There is a growing trend in the equine market towards the use of reproductive biotechnologies in order to improve equine genetics and reproductive rates of farms, which are based on the use of hormonal therapies. The aim of this work is to review the latest research on the use of hormonal therapies to manipulate the reproductive cycle of the cyclical mare. It includes a revision of the physiology of the reproductive cycle of the mare, the characteristics of each hormone involved in equine reproduction, and their use in hormonal therapies. The uses of the following different hormones that currently exist in the world were studied in depth: gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its analogs, human chorionic gonadotropin (hCG), natural and synthetic prostaglandins (PG), progesterone (P4) and progestogens, estrogens (E), oxytocin (OX), equine pituitary extract (EPE), and recombinant gonadotrophins (reFSH and reLH). Procedures studied include ovulation induction, luteolysis induction, cycle synchronization, estrus induction and suppression, uterine contractility induction, and induction of multiple ovulations.

TABLA DE ABREVIATURAS

IA	Inseminación artificial
TE	Transferencia de embriones
OPU	Aspiración transvaginal de ovocitos
ICSI	Inyección intra citoplasmática de espermatozoides
GnRH	Hormona liberadora de gonadotrofinas
hCG	Gonadotrofina coriónica humana
PGF2 α	Prostaglandina f2 alpha
PG	Prostaglandina
P4	Progesterona
E2	Estrógeno
OX	Oxitocina
FSH	Hormona folículo estimulante
LH	Hormona luteinizante
HAF	Folículo anovulatorio hemorrágico
CL	Cuerpo lúteo
PGE2	Prostaglandina E2
TSH	Hormona estimuladora de tiroides
eCG	Gonadotrofina coriónica equina
ReFSH	FSH recombinante
ReLH	LH recombinante
FIV	Fertilización in vitro
EPE	Extracto de pituitaria equina
AD	Acetato de deslorelina
IM	Intramuscular
IV	Intravenoso
IU	Intra uterino
PRID	Dispositivo intravaginal liberador de progesterona
DGSG	Dirección General de Servicios Ganaderos
IATF	Inseminación artificial a tiempo fijo
UI	Unidades internacionales
eFSH	FSH equina purificada
UNESP	Universidad estadual de Sao Paulo

INTRODUCCIÓN

La cría de equinos en nuestro país tuvo su comienzo a mediados del siglo XVII junto con la ganadería. En un principio eran utilizados como una herramienta en el trabajo agropecuario, transporte, servicios, ejército entre otras funciones, luego se comenzó a diversificar su uso comprendiendo actividades como competencias deportivas, funcionales, morfológicas, entretenimiento, actividades terapéuticas, así como exportaciones de equinos en pie. Actualmente Uruguay cuenta con más de 421 mil equinos según la última declaración jurada (2020), siendo el segundo país en relación equino por habitante, además, se estima que el rubro representa un valor agregado bruto para la economía uruguaya de casi un punto del PBI (Ferrari, et al., 2012). En los últimos años la cría de equinos ha tenido cierto dinamismo y por esta razón se ha puesto más énfasis en lo que respecta a la reproducción, teniendo como objetivo generar un potro sano por yegua por año, lo que implica que éstas deben concebir en el primer mes post parto (Nath, 2011). Dicho objetivo no siempre es alcanzable en la reproducción natural, ya que las yeguas presentan la tasa de fertilidad más baja, cuando son comparadas con las demás especies domesticas (Ginther, 1992). Sumado a lo mencionado anteriormente, la selección genética en los caballos ha sido enfocada hacia el desarrollo de aptitudes deportivas, fenotípicas o utilitarias y no en la habilidad reproductiva. Uno de los principales factores que interfiere en el control del ciclo estral de las yeguas es que son reproductoras estacionales, influenciadas por cambios en la luminosidad diaria a lo largo del año, presentando ciclicidad apenas en periodos de mayor luminosidad diaria (primavera-otoño). A esta limitación temporal fisiológica, se le agrega a algunas razas, una delimitación reglamentaria de la temporada de servicio, la cual puede incluso estar determinada fuera del período cíclico natural, como ser el caso del Pura Sangre de Carrera (Lazcano & Pereyra, 2020). Con el objetivo de reducir el impacto de dicha particularidad fisiológica y atender la demanda que produjo el importante avance en la cría de equinos, creció la adopción de biotecnologías aplicadas a la reproducción y, en consecuencia, se han producido mejoras en las técnicas. Para que la reproducción asistida de animales con alto valor genético tenga resultados satisfactorios, es fundamental conocer los mecanismos de la fisiología reproductiva, con el fin de realizar un manejo adecuado y obtener una mejor aplicación de las biotecnologías, generando de esta forma ganancias para los criadores (Lima, 2013).

Actualmente en nuestro país se realizan biotecnologías como inseminación artificial (IA) y transferencia de embriones (TE), pero la llegada inminente a países vecinos de otras técnicas más avanzadas como son la aspiración transvaginal de ovocitos (OPU), y la inyección intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) despierta el interés en profundizar el estudio sobre la manipulación del ciclo estral con diferentes hormonas.

Los beneficios que trae consigo la utilización de las terapias hormonales en programas de reproducción asistida son, entre otros, aumentar la duración del período de ciclicidad durante el año, acortar el ciclo estral, aumentar el número de ovulaciones/ciclo, aumentar el número de embriones recuperados/ciclo, sincronizar donantes y receptoras, hacer que el entorno uterino sea propicio para el desarrollo embrionario, inducir y/o suprimir señales de estro. Las principales hormonas utilizadas son: la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y sus análogos, la gonadotropina coriónica humana (hCG), las prostaglandinas naturales y sintéticas (PG), la progesterona (P4) y los progestágenos, los estrógenos (E), la oxitocina (OX), entre otras.

FISIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA YEGUA

La yegua es clasificada como poliéstrica estacional de día largo. Su aparato reproductor se modifica a lo largo del año y estos cambios se dan como consecuencia de la variación de horas luz que presenta el día en las diferentes estaciones del año en nuestra región. Durante la temporada de reproducción (primavera y verano), la yegua no preñada tiene ciclos estrales recurrentes, regulados por el eje hipotálamo-hipófisis-ovarios, el cual, mediante mecanismos neuroendocrinos, produce variaciones en la funcionalidad del aparato reproductor (Aurich, 2011). La luz actúa desencadenando estos mecanismos, una vez que el globo ocular detecta el estímulo lumínico a nivel de la retina, lo convierte en un impulso nervioso que alcanza la glándula pineal, la cual es considerada el mediador entre los receptores de luz y el eje hipotálamo-hipófisis-ovarios (Ginther, 1992). La hormona producida por la glándula pineal llamada melatonina, secretada durante las horas de oscuridad, ejerce un efecto anti gonadal sobre los ovarios, ya que actúa inhibiendo la síntesis y secreción de GnRH por parte del hipotálamo, por lo tanto, al aumentar las horas de luz en estación primaveral y estival disminuye la liberación de melatonina dando lugar a la liberación de GnRH (Neely, Liu & Hillman, 1990). En la yegua los pulsos de GnRH son seguidos de una descarga de hormona folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) por parte de la adeno hipófisis (Irvine & Alexander, 1987), las cuales actúan a nivel gonadal, la FSH por su parte promueve el crecimiento de los folículos, mientras que la LH es responsable de la maduración folicular, ovulación y luteinización (Brinsko, Blanchard, Varner, Schumacher & love, 2010) (Figura 1). De acuerdo con el fotoperiodo, el ciclo reproductivo anual de la mayoría de las yeguas se compone de dos fases: una anovulatoria y otra ovulatoria. Cabe destacar que dependiendo de la ubicación geográfica donde se encuentre la yegua, y con relación al fotoperiodo existe un porcentaje de las mismas que ciclan todo el año (Comunicación personal Profesor Rodrigo Mattos, 2 se marzo, 2022). En un estudio realizado en nuestra región por Z Winter, 2007 en yeguas de la raza criolla encontraron que un 25% de las mismas ciclaron todo el año.

La fase anovulatoria, compuesta por tres períodos: la transición de otoño, el anestro profundo o de invierno (observado en regiones de pocas horas luz diurnas) y la transición de primavera (Cuervo-Arango & Clark A, 2010), marcados por una pequeña concentración sérica de LH, mientras que la secreción de FSH no sufre alteraciones sustanciales (Freedman, García & Ginther, 1979, Saleh, 2011). La fase ovulatoria es la etapa cíclica, en la que se suceden ciclos estrales. El ciclo se divide en una fase folicular (estro) que culmina con la ovulación y durante la cual el tracto genital está preparado para aceptar la cópula y transportar los espermatozoides a los oviductos para la fertilización; y una fase lútea (diestro) en la que el tracto genital está preparado para recibir y nutrir el embrión (Ginther, 1992).

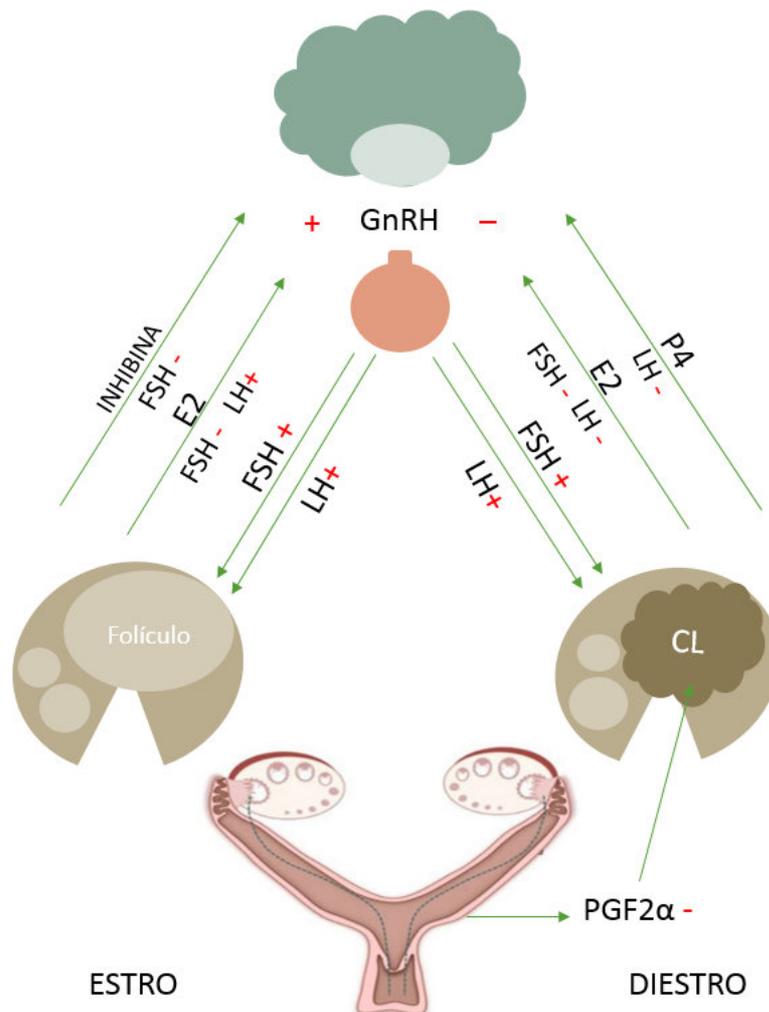


Figura 1. Regulación hormonal del ciclo reproductivo de la yegua (Extraído y modificado de Manual of Equine Reproduction Brinsko et al 2010).

Fases del ciclo reproductivo anual de la yegua

Transición de otoño

En los meses otoñales y como consecuencia de la disminución de las horas luz, al final de la etapa cíclica las yeguas entran en transición y a pesar de que suelen exhibir comportamiento de estro, el mismo presenta vigor reducido. En este período, puede aumentar la incidencia de folículos anovulatorios (HAF), y su desarrollo implica luteinización y hemorragia del mismo (Cuervo-Arango & Newcombe, 2012). Los HAF son folículos de tipo pre ovulatorio, lo que sugiere concentraciones adecuadas de FSH, pero sin embargo no ovulan, ya que existe una reducción de LH (Ginther, 1992). También se ha observado que en esta fase las yeguas ovulan y luego no desarrollan más folículos, formándose así un cuerpo lúteo persistente a pesar de los niveles bajos de progesterona existentes (Sharp, 2011). Es probable que estas dos características

reflejen los bajos niveles de GnRH propios del otoño. Esta fase es seguida por un periodo de anestro profundo llamado también anestro invernal. En nuestra región fue descrito que las yeguas comienzan la transición de otoño en el mes de mayo, 60 días luego del solsticio de otoño (Z Winter, 2007).

Anestro invernal

El anestro invernal o estación anovulatoria es caracterizado por ovarios pequeños y ausencia de actividad en los mismos (Allen, 1987). Esto ocurre en los meses de invierno donde disminuyen las horas de luz, y en consecuencia no existe ciclicidad. Sin embargo, existen algunas yeguas que a veces tienen niveles circulantes (reducidos) de FSH en sangre periférica, y por esta razón pueden alcanzar tamaños foliculares mayores a 10 mm, pero por lo general menores de 20 a 25 mm debido a la ausencia de LH. En esta estación, debido a la existencia de una mayor concentración de melatonina la cual genera una inhibición de la producción de GnRH, los niveles de LH se mantienen basales mientras que los de FSH no varían a lo largo del año (Ginther, 1992). A la inspección transrectal tanto a la palpación como a la ecografía los ovarios se encuentran pequeños e inactivos con sólo uno o dos folículos de menos de 15 mm (Watson et al., 2002). El útero se encuentra flácido, sin tono lo que hace difícil palparlo (Ginther, 1992). Luego de esta fase comienza la segunda transición, la transición de primavera. En nuestra región el anestro estacional se da en la mayoría de las yeguas (75%) (Z Winter, 2007)

Transición de primavera

La transición primaveral es quizás la de mayor importancia productiva, ya que acortar esta fase y adelantar la primera ovulación del año, alarga la etapa cíclica brindando más oportunidades de lograr una gestación. La reanudación de la actividad ovárica en la transición primaveral requiere de una serie de eventos, comenzando por la disminución de los niveles de melatonina como consecuencia del aumento de horas luz. Como resultado de dicha disminución aumentan las concentraciones de GnRH circulante, provocando un aumento de la secreción de gonadotrofinas y un cierto grado de actividad folicular. Cuando un folículo se vuelve dominante secreta estradiol en altas concentraciones induciendo una retroalimentación positiva en el eje hipotálamo-hipófisis, promoviendo así un aumento en la síntesis y secreción de GnRH lo que se traduce en una liberación de LH mayor (Sharp, Grubbaugh, Weithenauer, Davis & Wilcox, 1991). La gran mayoría de yeguas al salir del anestro profundo generado en los meses de invierno, presentan ciclos irregulares donde los folículos comienzan a crecer, pero no llegan a ovular (Figura 2) a consecuencia de una concentración insuficiente de GnRH. Este periodo dura entre 30 a 90 días aproximadamente (o menos dependiendo de la condición corporal) y es caracterizado por un reinicio de la actividad ovárica, los folículos crecen hasta unos 20 a 30 mm y se incrementa el número de folículos en el ovario. Ocurren entre 1 a 3 ondas foliculares anovulatorias antes de que ocurra la ovulación (Donadeu & Watson, 2007). El factor más importante para el reinicio de la actividad ovulatoria al final de este periodo transicional, es el nivel de LH circulante (Aurich, 2011). En nuestra región, sobre condiciones naturales las yeguas encierran la fase de transición de primavera próximo al solsticio de primavera (setiembre-octubre) (Z Winter, 2007).

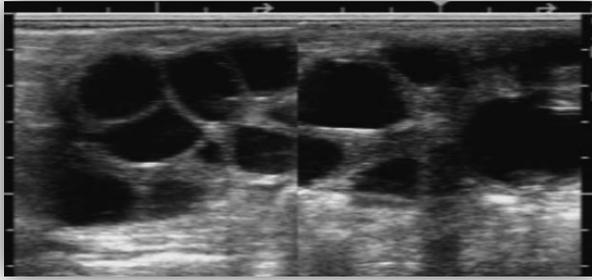


Figura 2. Imagen característica de un corte transversal visto por ultrasonido de un ovario de yegua en transición, donde se pueden observar muchos folículos pequeños sin que haya dominancia de alguno de ellos (Sharp, 2011)

Fase ovulatoria o cíclica

Con la finalización de la transición primaveral que culmina con la primera ovulación de la temporada, comienza la etapa cíclica, en la cual se presentan los ciclos estrales. El ciclo estral fue definido por Knottenbelt, LeBlanc, Lopate & Pascoe, (2003) como una interacción sincronizada de eventos anatómicos, endócrinos y conductuales que tienen como resultado la ovulación. Se lo divide en dos etapas, una es la fase folicular o estro y la otra es la fase lútea o diestro (figura 3), con una duración de entre 4 a 7 días y entre 14 a 15 días respectivamente, dando un total de 21 días en promedio. Esto se cumple en nuestra región en los meses estivales, no tan así en los meses de primavera y otoño donde se encuentran los celos de transición que son más largos dando un estro de 7 a 10 días y un diestro de 14 días (Slusher, Taylor MacAllister & Freeman, 1994). La dinámica del ciclo estral está dada por un fino equilibrio entre las hormonas de la glándula pineal (melatonina), del hipotálamo (GnRH), de la hipófisis (FSH y LH), los ovarios (E2 e inhibina) y del endometrio (PGF2).

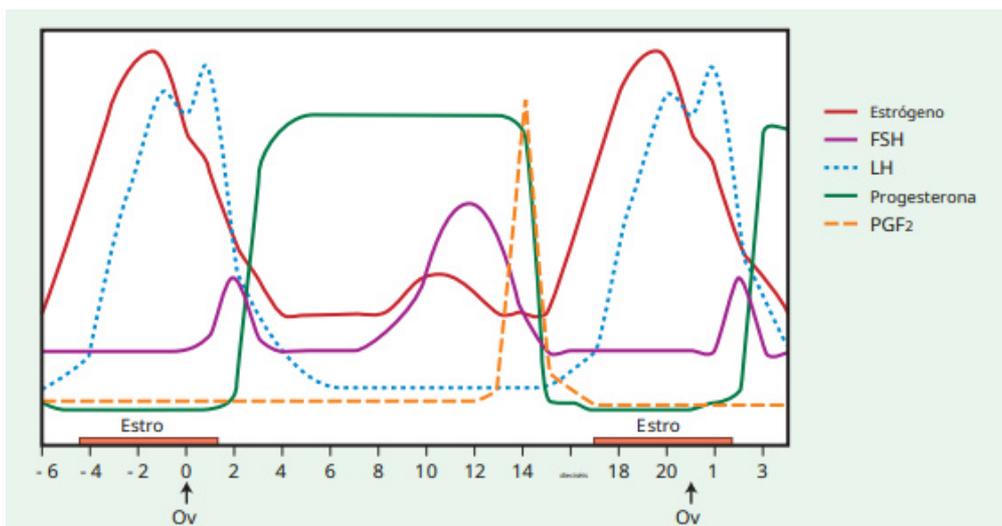


Figura 3. Dinámica hormonal del ciclo reproductivo de la yegua. Se considera el día de la ovulación como el día 0 del ciclo el cual comprende 21 días aproximadamente. (Adaptado de Aurich, 2011)

Fase folicular o estro

En la fase folicular como su nombre lo indica, la actividad más importante es el crecimiento, la selección y la maduración de los folículos ováricos para culminar en la ovulación. El factor liberador de gonadotrofinas hipotalámico, también llamado por sus siglas en inglés GnRH llega vía sistema portal hipotalámico-hipofisario a la hipófisis anterior donde estimula la producción de las gonadotrofinas LH y FSH. Estas hormonas son liberadas a la circulación sistémica y al llegar a su órgano diana (corteza de los ovarios) promueven el reclutamiento y selección folicular (FSH) y la maduración folicular, ovulación y luteinización folicular (LH) (Brinsko et al., 2010). La progesterona producida por el cuerpo lúteo (CL) tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre la liberación de LH, pero en este momento del ciclo, los niveles en plasma se encuentran por debajo de 1ng/ml y por lo tanto comienzan a aumentar los de estrógeno, liberados por las células de la teca de los folículos en maduración, principalmente el dominante, lo que lleva a una retroalimentación positiva sobre la liberación de LH.



Figura 4. Imágenes ultrasonográficas y endoscópicas de útero y ovario de yeguas en estro. En la imagen 4.A se puede apreciar una endoscopia uterina en la cual se destacan los pliegues grandes y abundantes de la mucosa endometrial resultado de la acción de los estrógenos liberados por el folículo dominante. Las siguientes imágenes (4.B y 4.C) muestran cortes transversales vistos por ecografía transrectal Modo B. En la imagen 4.B se destacan los pliegues anteriormente mencionados, junto con mucosidad vista como zonas más anecoicas, la imagen 4.C muestra un corte de un ovario en el cual se ve un folículo dominante (imagen extraída de Paredes, Jiménez & Hernández, 2012).

Ondas foliculares

En el ovario de la yegua hay aproximadamente 40.000 folículos primordiales y 100 folículos en crecimiento (Driancourt, Paris, Roux, Mariana, & Palmer, 1982). La formación del antro en la población de folículos en crecimiento, ocurre cuando el folículo alcanza un diámetro aproximado de 0,2 a 0,4 mm (Donadeu, 2008)

Una onda folicular se refiere al crecimiento de varios folículos que emergen en sincronía en uno o ambos ovarios de la yegua. Los folículos seleccionados en una cohorte u onda folicular crecerán, y por lo general sólo uno se vuelve dominante y crece hasta su ovulación, y el resto de los folículos se atresian, es decir regresan. El desarrollo periódico de ondas foliculares ocurre continuamente y está influenciado por

varios factores, como la etapa del ciclo estral, la estación, la preñez, la edad, la raza y el individuo (Driancourt et al., 1982). Por lo tanto, se pueden desarrollar diferentes tipos de ondas foliculares (menores o mayores, ovulatorias o anovulatorias) con niveles variables de actividad dentro de cada onda, bajo condiciones fisiológicas específicas. Las ondas foliculares comienzan en las potras durante la pubertad entre las edades de 11 y 15 meses (Ginther, 1992).

En las yeguas el ciclo se caracteriza por presentar ondas de crecimiento folicular con dos patrones típicos:

-Una onda folicular mayor que fue definida por Ginther (1992) como el conjunto de folículos que presentan un crecimiento sincronizado, donde luego uno de ellos sufre divergencia y domina a los demás cuando alcanza un diámetro ≥ 28 mm (Ginther, 1993; Ginther, Bergfelt, Beg, Meira & Kot, 2004).

-Una onda folicular menor en la cual el folículo mayor presenta un diámetro máximo de 22 a 23 mm y por lo tanto no alcanza el diámetro necesario para promover la divergencia entre los futuros folículos subordinados. Esta se inicia al final del estro hasta el inicio del diestro (Ginther, 1979).

A su vez la onda mayor se puede clasificar como primaria o secundaria: la primaria emerge en la mitad del diestro (días 7-8) y la ovulación ocurre en el estro, y la secundaria la cual su emergencia se da en el estro o en el inicio del diestro y como consecuencia se forma un folículo de diestro el cual puede ovular o regresar (Ginther, 1992).

Crecimiento, selección y divergencia folicular

Con el aumento de la FSH, comienza el reclutamiento folicular de un grupo de folículos antrales sensibles a esta hormona, la FSH alcanza su pico máximo alrededor del día 13 del ciclo, cuando los folículos en crecimiento común miden 13 mm. Luego la concentración de FSH comienza a declinar, debido a la secreción de inhibina producida por los folículos en crecimiento (Bergfelt, Man, Schwartz & Ginther, 1991). El día 15 aproximadamente, el estradiol producido por el folículo dominante contribuye a una disminución continua de FSH (Driancourt, 2001). Los dos folículos más grandes comienzan a desviarse en diámetro el día 16 del ciclo cuando el futuro folículo dominante y el subordinado llegan a un diámetro de 23 y 20 mm respectivamente (Ginther, 2017). El crecimiento del folículo dominante, después del proceso de selección, es menos dependiente de FSH, cuya concentración se mantiene en concentraciones basales debido a la retroalimentación negativa causada por la inhibina y el estradiol como fue mencionado anteriormente. El folículo que sufre divergencia será el de mayor tamaño y número de receptores para LH, mientras que los demás sufren el proceso de atresia o regresan (Gastal, Gastal, Bergfelt & Ginther, 1997). La yegua tiene la característica que generalmente sólo un folículo llega al estadio de dominancia. A partir de la divergencia el folículo preovulatorio crece a una tasa promedio de 3 mm por día hasta un diámetro aproximado de 35 mm cuatro días antes de la ovulación. El crecimiento continuo ocurre hasta 2 días antes de la ovulación cuando el tamaño folicular alcanza una meseta de aproximadamente 40 mm (Ginther, Gastal, Gastal, & Beg, 2008).

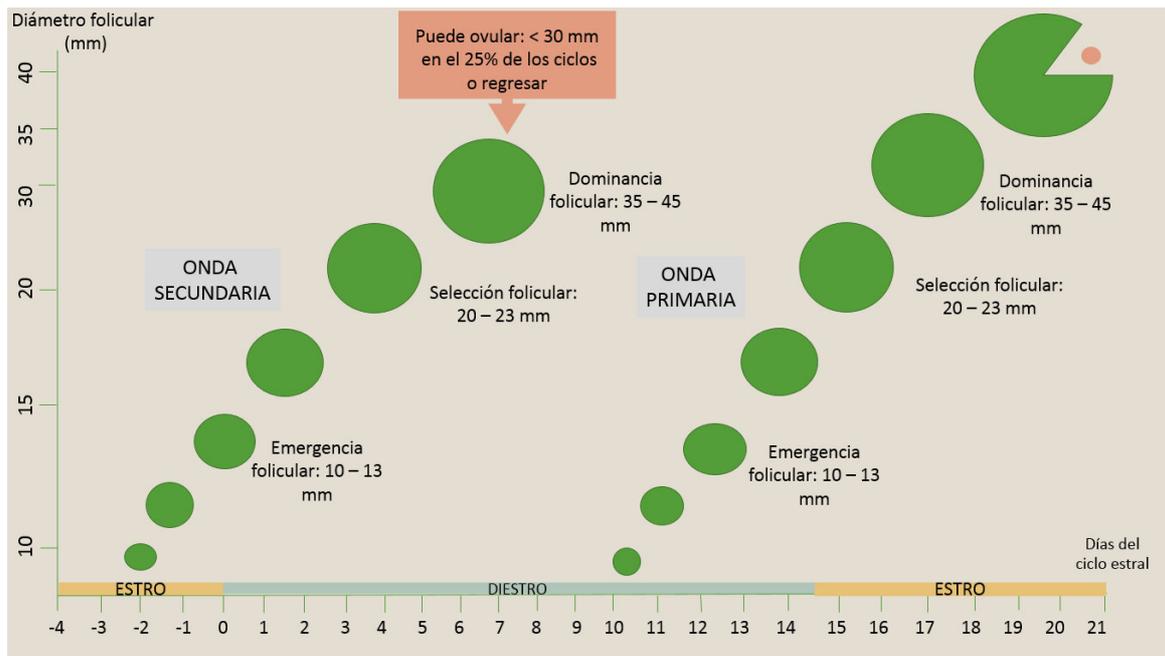


Figura 5. Ondas foliculares en el ciclo reproductivo de la yegua (Adaptado de Ginther, 2017).

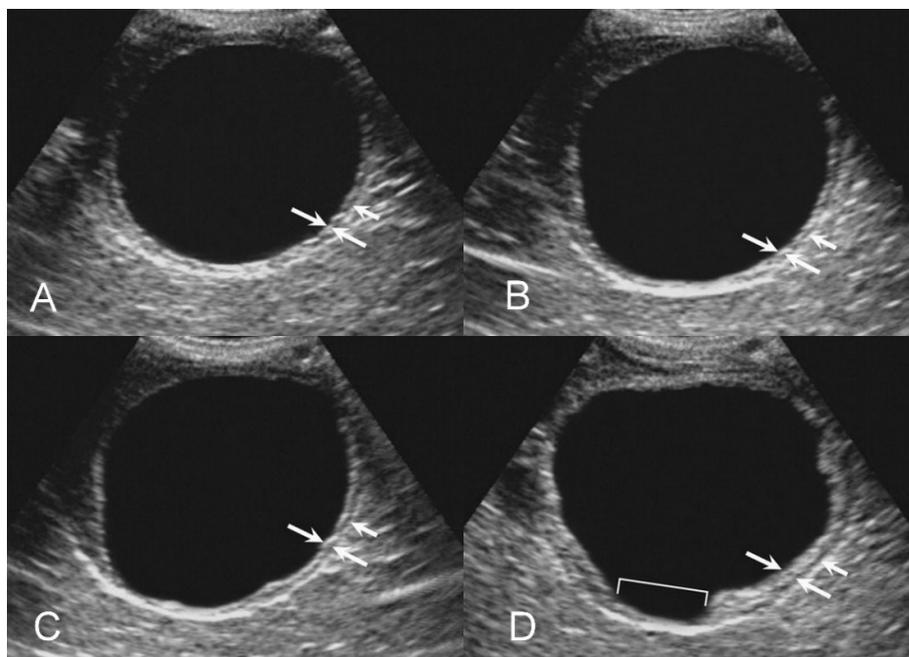


Figura 6. Corte transversal de ovario en el cual se aprecia un folículo preovulatorio. Las flechas indican la “doble pared” que se forma en el folículo debido al aumento de grosor de la capa granulosa. El gancho indica la fosa ovulatoria. 5A indica el día -3, 5B día -2, 5C día -1 y 5D día 0 (Imagen extraída de Gastal & Ginther, 2006).

Características ecográficas del folículo preovulatorio

El proceso de ovulación implica una serie de cambios a nivel folicular los cuales se pueden observar mediante ecografía. A medida que se acerca la ovulación, la granulosa se vuelve más gruesa y más ecogénica (figura 6). El folículo preovulatorio en la yegua cambia de forma y consistencia (pierde turgencia) a la palpación transrectal. Por ultrasonografía se puede observar que, de una forma circular, el folículo pasa a presentar bordes irregulares, y presenta una forma más oval haciéndose más cónico, con el vértice apuntando hacia la fosa de ovulación. En la imagen 6.D se puede observar la disminución del grosor de la capa granulosa en el área apical por donde será liberado el ovocito, esto evidencia que la ovulación ocurrirá de forma inminente. La imagen 6.A indica el día - 3, la 6.B - 2, la 6.C - 1 y la 6.D el día 0 o el día de la ovulación. (Gastal, Gastal & Ginther, 2006).

Ovulación

A diferencia de otras especies de animales domésticos que exhiben un pico de LH preovulatorio corto y pronunciado, en la yegua no existe un pico distintivo de LH periovulatorio. Durante el estro, el período de concentraciones elevadas de LH dura varios días (figura 7). El aumento gradual de LH se interrumpe transitoriamente después de la ovulación debido a la absorción de estradiol del líquido folicular, que se cree que se descarga en el abdomen y se absorbe en sangre en el momento de la ovulación (Ginther, Almamun, Shahiduzzaman & Beg, 2010) La LH ejerce su acción uniéndose a receptores de membrana en las células de la granulosa y de la teca del folículo preovulatorio. Produce un aumento de AMPc, estimulando la conversión de colesterol en pregnenolona. Además, desencadenando una serie de eventos que culminan en la expulsión del ovocito. Por un lado, la enzima colagenasa rompe el colágeno de la teca externa y así disminuye la tensión de la pared folicular. A medida que suceden los cambios de degradación del tejido conectivo se produce la formación del estigma en el ápice folicular, zona más delgada de la pared folicular por donde se liberará el ovocito en el momento de la ovulación. La PGF₂ α y PGE₂ intervienen en la ruptura de la pared folicular a través de la liberación de las enzimas contenidas en los lisosomas y en cambios vasculares (Gigli, Russo & Agüero, 2006).

El proceso de ovulación es rápido, el líquido folicular se libera en aproximadamente 2 minutos y la evacuación completa puede alcanzar hasta 7 minutos. La mayoría de las yeguas ovulan 48 horas antes de que finalice el estro (Brinsko et al., 2010). El ovocito liberado tiene una vida media de aproximadamente 18 horas (Woods, Bergfelt & Ginther, 1990).

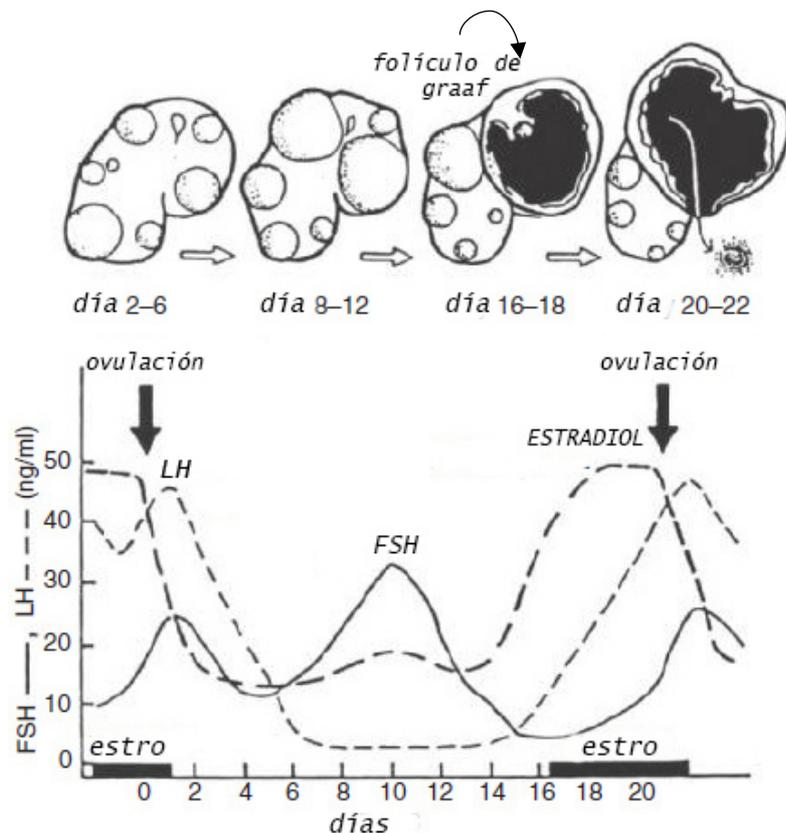


Figura 7. Imagen ilustrativa del patrón hormonal y el crecimiento folicular durante el ciclo estro de la yegua (Adaptado de McCue, Scoggin & Lindholm, 2011).

Características de una yegua en estro

Como consecuencia de la baja concentración de progesterona y alta de estrógeno mencionadas anteriormente se producen una serie de cambios tanto en el tracto reproductor como comportamentales. Estos cambios preparan a la hembra para el servicio y son: relajación del cérvix y vulva, aumento del edema de la pared uterina, aumento de secreciones desde el útero, cérvix y vagina para permitir el pasaje y transporte de semen. Presenta cambios de conducta como orinar frecuente, levanta la cola, contracción del clítoris, busca al macho, separa los miembros posteriores en presencia del macho (Aurich, 2011), y hay aceptación de la monta.

Fase lútea o diestro

Con la ovulación la cavidad folicular se llena de sangre dando origen al cuerpo hemorrágico, haciendo que comience la etapa del ciclo estro denominada diestro. Las células de la granulosa se transforman en células luteínicas, sintetizando progesterona la cual aumenta su concentración inmediatamente (Da Costa, Branco, Pessa, Silva & Ferreira-Días, 2005) llegando al pico máximo a los 8 días (8 a 16 ng/ml) luego de la ovulación (Ginther, Gastal, Gastal, Utt & Beg, 2007). La progesterona produce una retroalimentación negativa sobre la secreción de LH en la hipófisis. Una vez que se produjo el pico de progesterona la misma comienza a disminuir su concentración lentamente hasta los días 14-15 del ciclo, momento en el que ocurre la luteólisis de CL en el caso que no haya habido concepción (Aurich, 2011). (Figura 3)



Figura 8. Imágenes ultrasonográficas y endoscópicas de útero y ovario de yeguas en diestro. En la imagen 8.A se puede apreciar una endoscopia uterina de un animal en diestro, donde se observa un endometrio plano y sin pliegues endometriales. En las siguientes imágenes (8.B y 8.C) se observan cortes transversales vistos mediante ecografía transrectal con características típicas de un útero y ovario en diestro, en la imagen 8.B se observa una imagen homogénea, sin pliegues endometriales, resultado de la acción de la progesterona producida por el CL visto en la imagen 8.C la cual sería un corte de un ovario. (Imagen extraída de Paredes et al., 2013).

Luteólisis

La vida útil del cuerpo lúteo depende de la liberación endógena de prostaglandina F₂α (PGF₂α) producida por el endometrio, la cual es liberada en pulsos a partir de los días 13 a 16 después de la ovulación si no ocurre la preñez. Luego se absorbe en el drenaje venoso uterino, ingresando a la circulación sistémica y posteriormente a los ovarios (Brinsko et al., 2010). Fue comprobado en los últimos años que existe una secreción de oxitocina por parte de la hipófisis, liberada en pulsos, que acompañan a los de PGF₂α de forma que se establece un circuito de retroalimentación positiva sobre la liberación de PGF₂α (Vanderwall, Silva & Fitzgerald, 1998). La PGF₂α es fundamental para el inicio de la lisis del cuerpo lúteo, sin embargo, aún no se sabe exactamente cómo ejerce sus efectos luteolíticos, se cree que los mecanismos incluyen vasoconstricción, reducción del transporte de colesterol intracelular (células lúteas), estimulación de un influxo de leucocitos que, a su vez, secretan citoquinas capaces de desencadenar la apoptosis de las células lúteas y la remodelación de la matriz lútea (Weems, Weems & Randel, 2006). Este incremento de PGF₂α resulta en una disminución en la concentración de progesterona circulante, detectable dentro de las primeras 4 horas, llegando a concentraciones por debajo de 1ng/ml 40 horas luego de la liberación inicial de PGF₂α, esto hace que se elimine el bloqueo de la liberación de LH en la hipófisis (Brinsko et al., 2010). La regresión morfológica del CL es un proceso más lento que la luteólisis funcional y ocurre más tarde que este (Ginther et al., 2007).

Características de una yegua en diestro

Cuando los niveles de progesterona aumentan, el edema uterino se disipa y el útero se palpa tenso, turgente (grado 3/3) (Hayes & Ginther, 1986). En esta etapa del ciclo estral la yegua no es receptiva al macho, mostrando actitudes como: comportamiento agresivo hacia el macho, orejas hacia atrás, patadas y agitación de la cola de manera irritada (Aurich., 2011).

CARACTERÍSTICAS DE LAS HORMONAS NATURALES Y SINTÉTICAS UTILIZADAS EN LA YEGUA

PROSTAGLANDINAS

Las prostaglandinas están presentes en todos los tejidos animales y realizan diversas funciones. Son químicamente parte del grupo llamado eicosanoides derivados del ácido araquidónico. Presentan una vida media corta, debido a que la mayoría son moléculas lábiles. Participan en diversas funciones metabólicas y endócrinas, procesos fisiológicos y patológicos, como la ovulación, entre otros (González y Silva, 2003). Dentro de las prostaglandinas, la prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) y sus análogos sintéticos son las hormonas más utilizadas en reproducción equina.

Prostaglandina F_{2α}

La PGF_{2α} se utiliza en reproducción equina principalmente por su efecto luteolítico, Otro uso en reproducción equina es la inducción de la contracción miometrial. Existen comercialmente una prostaglandina natural (dinoprost) y sus análogos sintéticos (clorpostenol y luprostiol) ambos utilizados en equinos.

HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROFINAS

La hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) es un decapeptido sintetizado y almacenado en el hipotálamo basal medio. Ésta hormona establece la conexión entre el sistema humoral y los sistemas nervioso y endocrino de tal manera que, en respuesta a estímulos nerviosos, se liberan pulsos de GnRH al sistema porta-hipotálamo-hipofisario estimulando a la hipófisis a liberar LH y FSH (Hafez, Jainudeen & Rosnina, 2004).

Debido a su corta vida media (pocos minutos hasta 2 horas) y potencia reducida, el uso de GnRH no ofreció resultados interesantes en la especie equina, siendo necesarias aplicaciones repetidas por dos a tres días, para inducir la ovulación (Samper, 2008). En vista a este inconveniente se destacan sus análogos que se utilizan comúnmente para inducir la ovulación de forma satisfactoria en yeguas y hembras de otras especies ya que sus inyecciones inducen un aumento de LH preovulatorio endógeno. Existen diferentes análogos de GnRH disponibles comercialmente que serán descritos en las siguientes páginas.

GONADOTROFINAS

Las gonadotropinas hipofisarias (LH y FSH) pertenecen a una familia de hormonas glicoproteicas que también incluye la hormona estimulante de la tiroides (TSH) y la gonadotropina coriónica equina (eCG). Están compuestas por dos subunidades diferentes, llamadas α y β. La subunidad α es igual en todas las hormonas glicoproteicas, mientras que la subunidad β es específica de cada hormona (Sherman

et al., 1992). Las dos gonadotropinas hipofisarias, se sintetizan en la adenohipófisis después de la estimulación causada por la GnRH.

Las hormonas esteroides también controlan la síntesis y secreción de gonadotropinas, mediante la retroalimentación negativa que ejercen los estrógenos sobre la FSH y la retroalimentación positiva que ejercen sobre la LH.

Gonadotropinas recombinantes reFSH Y reLH

En los últimos años se ha aplicado la tecnología recombinante para crear dos gonadotropinas estimulantes relativamente nuevas, la reFSH y la reLH, que inducen satisfactoriamente la superovulación tanto en yeguas cíclicas como en yeguas en anestro estacional (Roser y Meyers-Brown, 2019). Se han diseñado formas quiméricas recombinantes de cada gonadotropina equina las cuales se han modificado mediante ingeniería genética del ADN complementario (DNAC) que codifica cada subunidad de las hormonas nativas. Estas gonadotropinas recombinantes son moléculas de cadena única, contrariamente a las formas nativas que son heterodímeros. El ADNc de cada subunidad de gonadotropina se ha fusionado uniendo el terminal carboxi al final de la subunidad beta con el extremo amino de la subunidad alfa a través de una extensión C-terminal de la subunidad beta de eLH (Jablonka-Shariff et al., 2007). Existen estudios que han demostrado su eficacia en la simulación de la ciclicidad en yeguas después de la supresión del crecimiento folicular (Jennings et al., 2009), inducción de múltiples folículos preovulatorios (Meyers-Brown et al., 2010) e inducción de la ovulación (Yoon et al., 2007). Como beneficio se puede destacar que los recombinantes monocatenarios no están contaminados con otras hormonas o enfermedades priónicas y son biológicamente activos para estimular el desarrollo folicular y la ovulación en la yegua (Roser & Meyers-Brown, 2019).

Gonadotropina coriónica humana (hCG)

La hCG es una glicoproteína hormonal que consta de dos cadenas de péptidos que contiene galactosa y hexosamina. Su peso molecular es 30.000 daltons y tiene una vida media de 8 a 12 horas. Se forma en las vellosidades coriónicas de la placenta humana y es detectable unos pocos días después de la concepción solamente, alcanzando su pico máximo alrededor de los 35 a 50 días de gestación (de Mestre, Douglas, Antczak & Allen, 2011). A pesar de ser una proteína químicamente diferente a la LH, tiene actividad biológica primaria idéntica. Es utilizada en reproducción equina como agente inductor de la ovulación ya que presenta acción similar a la LH, función que será mencionada en las siguientes páginas.

Extracto de pituitaria equina (EPE)

El extracto de pituitaria equina es una preparación parcial de gonadotropina equina la cual se trata de un extracto crudo que contiene de 6% a 10% de LH y de 2% a 4% de FSH. La respuesta de las yeguas cíclicas va a depender de la población folicular al comienzo del tratamiento. Se debe considerar la heterogeneidad de las muestras disponibles ya que las mismas son retiradas de animales sacrificados en frigoríficos y

por lo tanto con diferentes concentraciones hormonales. Se utiliza con el fin de inducir la ovulación y en programas de superovulación (Alvarenga, Farinasso & Rumpf, 2005).

HORMONAS ESTEROIDEAS

Las hormonas esteroideas derivan del colesterol y están formadas por un núcleo estructural común. Aunque las hormonas esteroideas muestran diferentes funciones, se diferencian entre sí básicamente por el número de átomos de carbono: un esteroide de dieciocho átomos de carbono muestra función estrogénica, mientras que un esteroide de diecinueve átomos de carbono muestra función androgénica y 21 átomos de carbono muestra actividad progestágena. El colesterol, un esteroide de 27 átomos de carbono, puede convertirse en pregnenolona (20 átomos de carbono) cuando se escinde su cadena lateral y posteriormente se convierte en progesterona, que puede convertirse en andrógenos y estrógenos (figura 9). Todas las células que sintetizan hormonas esteroideas utilizan las mismas vías biosintéticas que difieren únicamente por el sistema enzimático. Las hormonas esteroideas son producidas por las gónadas, los genitales son sus tejidos diana, promueven características sexuales secundarias y retroalimentan al hipotálamo inhibiendo los pulsos de GnRH y, por lo tanto, la LH y la FSH (Ginther, Gastal, Gastal & Beg, 2005).

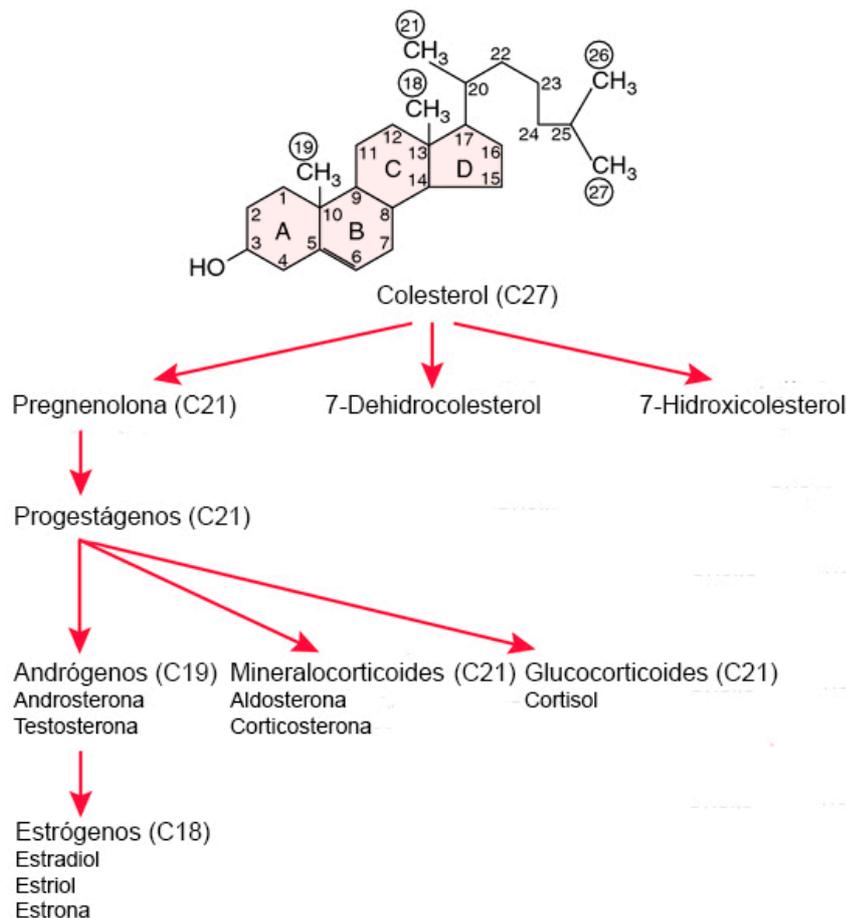


Figura 9. Esquema de la cadena de producción de las hormonas esteroideas. Imagen extraída y modificada de: Colesterol. (s.f.). Miller-Keane Encyclopedia and Dictionary of Medicine, Nursing, and Allied Health (7ª ed.).

Estrógenos (E2)

Los estrógenos son hormonas esteroideas y por lo tanto derivadas del colesterol como se mencionó anteriormente. Son producidos principalmente en el ovario y en menor cantidad en la zona reticular de las glándulas suprarrenales. Los E2 juegan un papel importante en la reproducción tanto de la yegua como del padrillo. Los estrógenos han sido tradicionalmente utilizados para la inducción del comportamiento estral en yeguas ovariectomizadas o acíclicas. La mayoría de los estrógenos ováricos se secretan durante el estro, lo que promueve el comportamiento estral y los cambios morfofuncionales del aparato reproductor. En el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal, el aumento de E2 cerca de la selección de folículos dominantes, y en asociación con la inhibina producida por los folículos, son responsables de disminuir la secreción de FSH que promueve la atresia de los folículos subordinados (Gastal, Gastal, Wiltbank & Ginther, 1999; Bergfelt, Gastal & Ginther, 2001). Durante el desarrollo y la maduración del folículo dominante, el aumento de la secreción de E2 muestra una retroalimentación positiva sobre la secreción pulsátil de LH (Hafez & Hafez, 2003). La LH se libera de forma pulsátil desde la hipófisis y se une a su receptor de membrana en las células de la teca, movilizándolo el colesterol a la vía esteroidogénica. Luego el colesterol es convertido a pregnenolona (figura 9) (Stocco & Clark, 1996). La pregnenolona se convierte en androstenediona, la cual se transporta a las células de la granulosa para convertirse en estradiol (Bruce W, 2011).

Progesterona (P4)

La progesterona es, como su nombre lo indica una hormona pro gestacional. Es sintetizada por el CL primario y secundarios hasta alrededor del día 150 de gestación, momento en el cual pasa a ser sintetizada y secretada únicamente por la unión materno fetal (placenta) hasta el día del parto (Noakes, Parkinson, England & Arthur, 2001). La síntesis dentro de las células lúteas esteroidogénicas, comienza en las mitocondrias donde el colesterol se convierte enzimáticamente en pregnenolona que posteriormente se transforma en progesterona. Una vez sintetizada difunde desde la célula y entra a la circulación sistémica donde se distribuye por todo el cuerpo, influyendo en la actividad de las células "diana" que contienen el receptor de P4 apropiado. La P4 es esencial para el mantenimiento de la preñez, para alterar la función endometrial (Galvão et al., 2013), controlar la diferenciación endometrial y la respuesta inmune local para hacer que el útero sea receptivo y permitir la implantación del embrión (Bhurke, Bagchi & Bagchi, 2016), inhibir la contractilidad miometrial (Anbe et al., 2007), aumentar el tono uterino y cervical, alisar el endometrio y para la expresión de los receptores miometriales de estradiol y progesterona (Silva et al., 2017).

OXITOCINA

La oxitocina es una hormona peptídica, sintetizada a partir de la neurofisisina en el núcleo supraóptico del hipotálamo. Es secreta tanto a partir de fuentes neurales como no neurales dentro del cuerpo. Hay muchas fuentes no neuronales de las que se ha informado la síntesis de oxitocina (Morresey, 2011). Las más importantes incluyen células intersticiales de Leydig en testículo, epidídimo, glándulas prostáticas, cuerpo lúteo dentro del ovario, útero, oviducto, placenta y glándulas suprarrenales.

La oxitocina actúa directamente sobre las células del músculo liso y provoca la contracción del músculo. Indirectamente estimula la síntesis de PGF2 α dentro del tracto genital femenino. Esta hormona participa en una amplia variedad de actividades, desde la bajada de la leche, el parto, la erección del pene y la eyaculación hasta el comportamiento social, sexual y materno (Assad, Pandey, & Sharma 2016). Sin embargo en reproducción su efecto más buscado es el llamado "ecbólico" o contráctil de la musculatura del útero, con el objetivo de provocar su evacuación (Ignacio F, 2018).

TERAPIAS HORMONALES

A la particular fisiología reproductiva que presenta la yegua, con una gran variación en la duración del intervalo entre el inicio del estro y la ovulación (Ginther et al., 1972) y un diestro largo, se le suma que algunos parámetros del ciclo estral son variables cuando consideramos a cada yegua individualmente, hechos que dificultan el manejo reproductivo. Por lo tanto, resulta de suma importancia para la obtención de mejores resultados reproductivos, la manipulación del ciclo estral. La terapia hormonal es una técnica utilizada desde hace muchos años en reproducción equina, sin embargo, en los últimos años ha tenido cierto avance en cuanto a investigación y por lo tanto se han probado nuevas moléculas con el fin de manipular el ciclo hormonalmente para lograr obtener sus beneficios. Actualmente ha crecido la demanda por técnicas reproductivas como IA, TE, FIV, OPU e ICSI, con el fin de facilitar la obtención de un producto genéticamente superior. Por esta razón el uso de la terapia hormonal es imprescindible en los programas de reproducción asistida.

Los principales usos y/o beneficios que trae la utilización de hormonas externas en la hembra equina son:

- Aumento de la duración del periodo de ciclicidad de la yegua durante el año
- Aumento del número de ovulaciones por ciclo
- Acortamiento del ciclo estral
- Supresión o inducción del comportamiento de estro
- Sincronización e inducción de ovulación
- Preparación del ambiente uterino para la concepción
- Inducción del parto
- Auxilio en el tratamiento de infecciones uterinas
- Contribución en el uso de biotecnologías reproductivas

En este trabajo nos centraremos en la manipulación hormonal de la yegua durante el período cíclico.

Es importante aclarar que el manejo hormonal no se considera efectivo cuando existe un desequilibrio entre los factores que se pueden encontrar en la cría de equinos, como son la nutrición, el manejo, el bienestar y la salud. Por tanto, es fundamental tener en cuenta que se debe administrar una alimentación adecuada en cada etapa de crecimiento ya que esto nos lleva a obtener un rendimiento de calidad durante los ciclos reproductivos de las yeguas. También un manejo adecuado con ausencia de estrés recurrente, ambiente apropiado y sanidad controlada para que las terapias hormonales en la reproducción tengan excelentes resultados.

INDUCCION DE LA OVULACION

La especie equina presenta una gran variación en la duración del estro o intervalo entre el inicio del estro y la ovulación (Ginther, Whitmore & Squires, 1972), por esta razón es rutinaria la manipulación hormonal tratando de tener una hora más exacta del momento de la ovulación. El uso de fármacos inductores de la ovulación permite que la gran mayoría de las yeguas ovule de forma sincronizada, dentro de un periodo predeterminado, reduciendo así el número de evaluaciones reproductivas y mano de obra por parte del profesional, y se obtienen mayores tasas de concepción al depositar

el semen en el tracto reproductivo de la yegua próximo a la ovulación (Woods, Bergfelt & Ginther, 1990). Las yeguas que presentan edema endometrial y cuello uterino relajado (Samper, 2008), y cuyo folículo dominante mide a partir de 30 a 35 mm son consideradas como candidatas ideales para la inducción de la ovulación para fines como monta dirigida o inseminación (McCue, Farquhar, Carnevale & Squires, 2002; McCue, Hudson, Brummer & Squires, 2004; Carnevale, Coutinho Da Silva, Panzani, Stokes & Squires, 2005),

La ovulación en las yeguas ocurre en promedio 75 horas después de que un folículo alcanza los 35 mm de diámetro (Silva et al., 2016), y dicho período puede acortarse a 36-48 horas mediante inductores de ovulación. La inducción de la ovulación es ampliamente empleada cuando el semen a utilizar es limitado, proviene de un padrillo muy solicitado, es refrigerado o criopreservado y/o será utilizado en yeguas sensibles a la endometritis persistente post cobertura, en las cuales se debe realizar solamente una inseminación por ciclo (McCue, 2003).

AGENTES INDUCTORES DE LA OVULACION

Existen relatos del empleo de agentes inductores de la ovulación desde hace aproximadamente cinco décadas (Loy & Hughes, 1966). Se han probado varios agentes inductores, obteniendo diferentes resultados, entre los que se mencionan: extracto de pituitaria equina (EPE), LH equina recombinante (reLH), GnRH y sus análogos: buserelina, deslorelina, histerelina, fertilirina, lecirelina y triptorelina. Sin embargo, según Farias, Neves, Fiala Rechsteiner & Tarouco, (2016) la hCG y los análogos de la GnRH como el acetato de deslorelina o histerelina son las hormonas más utilizadas para la inducción de la ovulación en yeguas.

Gonadotropina coriónica humana (hCG)

La hCG es una proteína la cual tiene una vida media de 8 a 12 horas. Se forma en las vellosidades coriónicas de la placenta humana. La hCG fue la primera hormona utilizada para inducir la ovulación en yeguas y es la más utilizada, debido a las similitudes en la estructura molecular con la LH, y la unión de la hCG a sus receptores. Además, se ha asumido que las propiedades inductoras de la ovulación de la hCG en las yeguas son el resultado de un efecto directo que imita los mecanismos del aumento de LH endógena (Wilson, Downie, Hughes & Roser, 1990). Esta hormona induce la ovulación de forma eficaz en yeguas que presentan folículos mayores de 35 mm y la misma ocurre en un periodo de 24 a 48 horas post administración (Newcombe, 2011). En un estudio realizado por Brugmans A, en 1997 en el cual se administró 1500 UI I/V a yeguas que presentaban folículos de 35 a 40 mm, obtuvieron que el 91% de las yeguas ovulaba entre 24 a 48 horas. Posteriormente Barbacini, Zavaglia, Gulden, Marchi & Necchi, (2000) informaron que solo el 76% de las yeguas ovularon en un período de 25 a 48 horas, las mismas eran tratadas con 2000 UI I/V cuando era detectado un folículo de 35 mm o más. Samper, Jensen, Sergeant & Estrada, (2002) informaron en su investigación que el 83,3% de las yeguas tratadas con hCG con un folículo de más de 30 mm de diámetro ovularon en 48 horas, y en 96 horas el 100% de las yeguas habían ovulado. Aunque los informes varían, generalmente se acepta que si se administra apropiadamente, la hCG puede inducir la ovulación en la mayoría de las yeguas en un período de 36 a 48 h después del tratamiento (McCue, Ferris & Burden, 2014). Por lo tanto el uso de esta hormona tiene como ventaja que asegura

la ovulación en un alto porcentaje de yeguas en una ventana de tiempo determinada. Cuando se administra hCG, hay que destacar que la ovulación de folículos que ya están destinados a ovular dentro de las 0-36 horas posteriores al tratamiento puede no acelerarse. (Newcombe, 2011). Además, es importante mencionar que la hCG no inducirá la ovulación de folículos atrésicos, que son los que comúnmente se encuentran en la transición de primavera, pero también se puede encontrar en yeguas cíclicas en el celo temprano o medio. Estos últimos son folículos que se han desarrollado con diámetros casi preovulatorios durante el diestro, pero se vuelven atrésicos en la luteolisis o justo después de la misma (Newcombe, 2011). Se debe tener en cuenta que repetidas aplicaciones en una misma estación de monta puede no tener el efecto deseado, ya que el hCG es una glicoproteína que el organismo detecta como un antígeno y por lo tanto produce anticuerpos contra dicha molécula (Bartoli, 2009). Por esta razón McCue et al., (2004) recomiendan utilizar el hCG solamente en dos ciclos estrales en cada estación reproductiva, debiendo substituirlo por otros inductores en las siguientes.

Para que ocurra la ovulación es necesario aplicar solamente una dosis, la cual varía entre 1000 a 5000 unidades internacionales (UI). Esta hormona está disponible comercialmente en Uruguay (CHORULON Intervet UK Ltd) como una preparación liofilizada, la cual se pretende que el polvo se re suspenda inmediatamente antes de la administración y sea desechado después 24 horas. Los fabricantes de Chorulon sugieren dosis de 1500 o 3000 UI independientemente del peso corporal.

GnRH y sus análogos

La GnRH, como fue mencionado anteriormente, no ofreció buenos resultados en la especie equina debido a su corta vida media, que varía desde unos pocos minutos a dos horas, siendo necesarias aplicaciones repetidas por dos a tres días, para inducir la ovulación (Samper, 2008). Por esta razón se hizo habitual el uso de sus análogos sintéticos como, por ejemplo: el acetato de deslorelina que de acuerdo con Padua (2005), parece ser aproximadamente 100 veces más potente que la GnRH.

En principio fue desarrollado un implante para la inducción de la ovulación que contenía 2,1 mg de acetato de deslorelina (OvuplantTM, Peptide Technologies, Sydney, Australia). Inicialmente, el implante se insertó debajo de la piel en el área de la tabla del cuello por debajo de la crin, posteriormente se colocó debajo de la mucosa del labio vulvar (Brinsko et al., 2010) Aunque el implante ya no está disponible en EE. UU., se utiliza con frecuencia en otros países que sí está disponible (Squires, 2011). Los implantes tienen como inconvenientes su aplicación y la necesidad de retirarlos una vez establecida la ovulación. En el caso que el mismo no sea retirado 48 horas luego de su colocación, algunas yeguas pueden presentar intervalos interovulatorios prolongados, con atraso en el retorno al estro (Henderson, Brama, Osborne, y Beltman, 2012), debido a una reducción de la sensibilidad de GnRH (Johnson, Thompson & Cartmill, 2002).

El acetato de deslorelina (AD) tiene como ventaja que su uso repetido no disminuye su eficacia (Ferris, Hatzel, Lindholm, Scofield & McCue, 2012). En un estudio realizado por Melo et al. (2012) utilizando 1 mg de acetato de deslorelina de liberación lenta por vía intramuscular (I.M.) observaron ovulaciones de folículos ≥ 35 mm en 79,3% de las

yeguas entre 24 y 48 horas luego de su aplicación, siendo el periodo medio observado de 38,9 horas, similar a los demás estudios encontrados en la literatura de 40,8 horas (Fleury, Alonso, Alvarenga & Douglas, 2004), 41,4 horas (Ferris et al., 2012) y 40,1 horas (Boakari, 2014). En un estudio reciente realizado por Herrera et al., (2018) utilizando una dosis de 0,75 mg de acetato de deslorelina intra muscular (IM) se obtuvo una tasa de ovulación de 100% hasta 48 horas post aplicación. A pesar de que sus ovulaciones ocurren aproximadamente cuatro horas después, comparado con yeguas tratadas con hCG (McCue, Ferris & Burden, 2014), el acetato de deslorelina demostró ser igualmente eficaz en la inducción y sincronización de la ovulación, reduciendo la duración del estro y estimulando la ovulación de folículos pre ovulatorios menores (Cuervo-Arango & Newcombe, 2008). El tratamiento con formulaciones inyectables de acetato de deslorelina estimula una rápida elevación de las concentraciones plasmáticas de LH, detectables pasados 30 (Ingwerson, 2007) y 60 minutos (Boakari, 2014), llegando al pico plasmático siete a ocho horas post administración (Donadeu, 1997; Boakari, 2014). Este último autor comprobó que los niveles plasmáticos de LH fueron superiores a los del control en las siguientes seis horas luego de la ovulación en animales inducidos con 1,5 mg de acetato de deslorelina (IM).

Además del acetato de deslorelina, hay otros análogos de GnRH también son usados con este objetivo. Newcombe & Cuervo-Arango, (2016) demostraron en su investigación que al administrar una dosis única de 0,5 mg (IM) de buserelina (buserelina Zoovet) fue eficiente para inducir la ovulación en 82,6% de las yeguas tratadas. También fue observada la ovulación 48 horas post administración de fertilirina (Fertigen, Virbac) a una dosis de 100 mcg en 90 % de las yeguas (Santos et al., 2008) y en el 100 % las yeguas tratadas con dos dosis (100 mcg) de lecirelina (Dalmarelin, Fatro) con intervalo de 12 horas (Awan, Mehmood, Muhammad, Sattar & Ahmad, 2016).

Una investigación reciente confirmó que el acetato de triptorelina (Decapeptyl NDH, IPSEN) a la dosis de 0,1 mg indujo la ovulación del 9,7% de las yeguas en las primeras 0-24 horas y 84,7% de las yeguas en las 24-48 horas posteriores al tratamiento (Dordas et al., 2020).

La histrelina otro análogo de GnRH, es capaz de inducir y sincronizar las ovulaciones en yeguas a las dosis de 1,0, 0,5 y 0,25 mg (I.M.) dentro de las 48 horas posteriores a tratamiento (Voge, Sudderth, Callahan, Hansen & LeBlanc, 2012; Kiser et al., 2013). Estos autores reafirman la capacidad de este análogo de inducir la ovulación al inicio de la estación reproductiva cuando es sabido que las concentraciones de LH son menores.

Análogo	Dosis y vía	Tasa de ovulación	Autor
Acetato de deslorelina	1 mg (IM de liberación lenta)	79,3% (24-48 hs) media 38,9 hs	(Ferris et al., 2012).
Acetato de deslorelina	0,75 mg (IM)	100 % (24-48 hs)	(Herrera et al., 2018)
Acetato Buserelina	0,5 mg (IM)	82,6% (24-48 hs)	(Newcombe y Cuervo-Arango, 2016)
Acetato Fertilirina	100 mcg (IM)	90% (12-48 hs)	(Santos et al., 2008)
Acetato de Lecirelina	100 mcg 2 dosis c/12 hs (IM)	100 % (24-48 hs)	(Awan et al., 2016)
Acetato de triptorelina	0,1 mg (IM)	84,7% (24-48 hs)	(Dordas et al., 2020)
Acetato de histrelina	0,25 mg (IM)	88% (24-48 hs)	(Kiser et al., 2013)

Figura 10. Cuadro comparativo de los diferentes análogos de GnRH estudiados en los últimos años.

Actualmente en Uruguay existen solamente dos análogos de GnRH de los anteriormente mencionados disponibles comercialmente. Uno de ellos es el acetato de buserelina (Gonaxal, Biogénesis Bagó) el mismo es administrado de forma intramuscular profunda (aunque puede usarse endovenosa y subcutánea como vías alternativas) a un volumen de 10 ml/yegua, lo que equivale a 0,042 mg de buserelina/yegua, el laboratorio indica administrarla 6 horas antes de realizar el servicio o inseminación artificial, aplicando el producto por la mañana y realizando el servicio por la tarde. El laboratorio no especifica el tiempo esperado de ovulación. Por otro lado, Lecirelina (Dalmarelin, Fatro Fedagro) el cual está indicado para equinos a la dosis de 4 ml.

Combinación de hCG y análogos de GnRH

En un estudio realizado por Segabinazzi, Oba & Alvarenga, (2021) el cual tuvo como objetivo probar si la combinación de hCG y acetato de deslorelina podrían acelerar la ovulación en las yeguas o ser más eficientes en la inducción de la ovulación comparado a cuando son utilizadas solas. Dichos autores concluyeron que el intervalo medio entre la administración de un agente inductor de la ovulación y la ovulación fue similar ($P > 0,05$) entre hCG ($39,4 \pm 2,7$ horas), GnRH ($42,5 \pm 2,9$ horas) y ambas hormonas combinadas hCG+GnRH ($40,2 \pm 3,3$ horas).

Extracto de hipófisis equina (EPE)

Además del uso de hCG y análogos de GnRH, otra alternativa sería el uso del extracto de pituitaria equina (EPE) la cual es una hormona producida a partir de la hipófisis de equinos recién sacrificados, razón por la cual tiene concentraciones variables de LH y FSH (Greco, 2010). La LH presente en EPE actúa de manera similar a la hCG para

inducir la ovulación, sin el inconveniente de la formación de anticuerpos. También se puede administrar EPE a yeguas acíclicas para adelantar el inicio de la temporada de reproducción (Squires, Carnevale, McCue & Bruemmer 2003). Duchamp, Bour, Combarous & Palmer (1987), demostraron que una dosis de 50 mg I.V de EPE fue eficiente para inducir la ovulación en 86% de las yeguas, siendo que a la dosis de 25 mg indujo la ovulación en el 57% de ellas. En otra investigación más reciente publicada por Melo et al., (2012) informaron que EPE a una dosis de 10 mg I.V adelanta el tiempo de ovulación en aproximadamente 4 horas en relación al acetato de deslorelina (análogo de GnRH), y que el uso de 5 mg de EPE demostró ser tan eficiente como el de 10 mg en la inducción de la ovulación. Sin embargo, no está disponible comercialmente y su uso se ha limitado a condiciones experimentales.

INDUCCIÓN DE LA LUTEOLISIS

Una vez finalizada la ovulación se forma el cuerpo lúteo, el cual suele ser funcional durante 14 a 15 días en las yeguas no preñadas, luego se produce la luteólisis como resultado de la liberación de prostaglandinas por el endometrio. Con la finalidad de acortar la fase lútea, para adelantar el inicio del siguiente ciclo, se utilizan prostaglandina F₂α y sus análogos. Sin embargo, para que las prostaglandinas en dosis única terminen eficazmente la fase lútea, debe estar presente un CL maduro que responda a las mismas. Por lo tanto, una alta proporción de yeguas con ciclo normal, el cuerpo lúteo no responde a una sola inyección de PGF₂α hasta el día 5 después de la ovulación (Allen & Rowson 1973).

En investigaciones recientes se ha demostrado que la administración de dosis seriadas de PGF₂α (dinoprost) inmediatamente después de la ovulación puede prevenir de forma eficaz la función del CL y consecuente esteroidogénesis. Por lo tanto, es un enfoque novedoso para inducir la antiluteogénesis, ya que podría usarse clínicamente para casos puntuales en los que las yeguas pueden beneficiarse de la prevención inmediata de la formación lútea en un intento de inducir el estro y la ovulación (Coffman et al., 2014).

En promedio, las yeguas regresan al estro 2 a 3 días luego de la administración de PG, mientras que la ovulación ocurre de 4 a 6 días después. Este intervalo varía debido a que el momento de la ovulación dependerá del tamaño de los folículos presentes en el ovario al momento de la administración de la PG (Loy, Buell, Stevenson & Hamm, 1979).

Prostaglandina F₂α y análogos

Los productos comerciales pueden proporcionar PGF₂α natural, como es el dinoprost trometamina, o un análogo sintético, cloprostenol. Las dosis luteolíticas recomendadas para dinoprost trometamina varían entre 5 a 10 mg IM, mientras que para cloprostenol son 250 µg I.M (Stout Tom, 2011). La PGF₂α natural o sus análogos tienen una vida media corta, pero cuando son administradas en bolos tiene efectos significativos (Staempfli, 2011). Aunque la prostaglandina F₂α se puede administrar por vía intramuscular (IM), intravenosa (IV), intrauterina (IU) o intralútea, se prefiere la vía intramuscular, ya que combina la practicidad con menores efectos secundarios. Dichos efectos se observan en aproximadamente el 10% de las yeguas pocos minutos después de su administración y los signos más frecuentes son: sudoración,

taquicardia, trastornos abdominales, incoordinación motora y postración (Faria & Gradela, 2010).

En nuestro país contamos con 3 opciones disponibles comercialmente de D-cloprostenol: Veteglan (Calier), Dalmaprost (Fatro Fedagro), sincromic (Microsules) a la dosis de 1 ml/yegua que equivale a 75 ug/yegua y Estrumate (MSD) a la dosis de 0,1 a 0,25 mg lo que equivale a 0,5 a 1 ml/yegua. También se encuentra disponible dinoprost trometamina: Lutalyse (Zoetis) el cual se administra vía IM o subcutánea a una dosis de 5 mg de dinoprost (1 ml de Lutalyse) Las cinco presentaciones están indicadas para equinos.

<u>D-cloprostenol (PG sintética)</u>	Laboratorio	Dosis (mg)	Dosis (ml)
Veteglan	Calier	75 ug/yegua	1 ml
Dalmaprost	Fatro Fedagro	75 ug/yegua	1 ml
Sincromic	Microsules	75 ug/yegua	1 ml
Estrumate	MSD	0,1 a 0,25 mg/yegua	0,5 a 1 ml
<u>Dinoprost trometamina</u>			
Lutalyse	Zoetis	5 mg/yegua	1 ml

Figura 11. Cuadro comparativo de las diferentes prostaglandinas y análogos presentes comercialmente en nuestro país.

Lisis de un cuerpo lúteo persistente

El cuerpo lúteo que no retrocede en el tiempo normal post-ovulación se considera patológicamente persistente. La fase lútea persistente puede durar de 2 a 3 meses, tiempo durante el cual la yegua no expresa conducta de estro (Stout Tom, 2011). Independientemente de la causa del estado lúteo persistente, la administración de una sola dosis intramuscular de dinoprost trometamina (5-10 mg) o cloprostenol (250 µg) provocarán la luteólisis y posterior estro en más del 80% de casos (Irvine, 1993). Otro análogo de la prostaglandina utilizado con este fin es el luprostiol, el cual a una dosis única de 7,5 mg/kg provoca la lisis del CL y el animal mostrará conducta de estro 5 días post administración (Kuhl, Aurich & Aurich, 2017).

PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO Y OVULACIÓN

En reproducción asistida, se utiliza las hormonas para sincronización de donantes con receptoras en programas de TE, para inseminación con semen congelado post ovulación, así como también sincronizar y predecir el momento de la ovulación disminuyendo la mano de obra y costos de envío en el caso de semen refrigerado. Además, es fundamental en el manejo de ciertas yeguas que deben tener una inseminación única cronometrada cerca de la ovulación debido a su tendencia a desarrollar endometritis pos servicio (Malschitzky, Mascarenhas, Macedo & Costa Mattos, 2007).

Los protocolos completos abarcan el uso de hormonas para simular una fase lútea y detener el desarrollo folicular por un periodo determinado (progesterona, progestágenos, y estradiol), el cual termina en un momento concreto con el fin de iniciar una nueva onda folicular al eliminar el bloqueo. Pueden combinarse con la administración de PG para inducir luteólisis de cualquier estructura lútea remanente, posterior a eso se utilizan inductores de la ovulación. (Almeida, Gonçalves, Paes & Alvarenga, 2001).

Progestágenos

Los progestágenos exógenos se utilizan comúnmente en los programas de sincronización del estro para alargar la fase lútea, dando como resultado una inhibición del desarrollo folicular. Las formas de presentación más comúnmente utilizadas son la progesterona natural oleosa y el altrenogest oral (progestágeno sintético). La progesterona o el alternogest administrados solos o en combinación con 17β -estradiol alargarán eficazmente la fase lútea indefinidamente hasta que se interrumpa su administración (Pinto, 2011)

Cuando se utiliza progestágenos para la sincronización del estro las dosis recomendables son: de altrenogest 0,044 mg/kg cada 24 horas por vía oral, o de progesterona oleosa 150 mg/día IM. Ambos se utilizan durante 10 días, en combinación con la administración de una dosis de PGF 2α el último día de tratamiento con progestágenos para lisar cualquier CL presente que esté produciendo P4 endógena. Tratamientos más cortos de altrenogest o P4 y E2 durante 7 u 8 días también se han utilizado con éxito (Pinto, 2011). La utilización de dispositivos intravaginales de uso bovino conteniendo P4 es frecuente en equinos, principalmente en países vecinos como Brasil y Argentina. En un trabajo realizado por Wilde, Vega y Cruz (2002) en el cual se utilizó un dispositivo intravaginal de uso bovino (PRID) que contenía 1,55 g de progesterona, el mismo se mantuvo por 12 días y luego de retirado se observó que todas las yeguas presentaron comportamiento de estro en un periodo de 24-72 horas. En un estudio posterior realizado Bianchi, Guerrero, Dorna, Cavilla y Aba (2011) utilizando un dispositivo intravaginal conteniendo 1,38 g de P4 durante 8 días, obtuvieron que el dispositivo indujo concentraciones plasmáticas de progesterona superiores a 2,1 ng/ml durante su exposición, también se observó la presencia de un folículo ovulatorio entre el retiro del dispositivo y 5 días posteriores. Cabe señalar que el uso de tal dispositivo puede provocar una secreción vaginal, sin embargo, es utilizado muchas veces por ser más económico que el alternogest. También existen dispositivos intravaginales de progesterona fabricados para equinos (Cue-mare) los cuales contienen 1,72 g de P4 (Hanlon & Firth 2012) pero en Uruguay no están disponibles aún.

En nuestro país se cuenta con Progesterona Rio de Janeiro (Leon Pharma) la cual está indicada su administración por el fabricante una vez al día a la dosis de 2 a 4 ml/yegua. Por otro lado, se cuenta con clormadinona (Ripol) (progestágeno sintético) el cual debe ser administrado a una dosis de 120 mg lo que equivale a 12 ml de solución vía IM. El laboratorio no especifica cada cuanto se administra. Ambas están indicadas para la especie equina.

Combinación de Progesterona y estradiol

Para mejorar la sincronización del celo en yeguas se puede administrar una combinación de progesterona y estrógeno, en lugar de progesterona sola. El efecto combinado de las dos hormonas proporciona una retroalimentación negativa más profunda sobre la liberación de gonadotropinas que la progesterona sola, lo que da como resultado una inhibición más uniforme del desarrollo folicular. Cuando se suspende la terapia con progesterona/estrógenos exógenos, hay menos diversidad en la maduración folicular y la fecha en que ocurre la ovulación puede sincronizarse más estrechamente. El protocolo recomendado incluye inyecciones intramusculares de progesterona (150 mg) combinada con 17 β -estradiol (10 mg) oleoso durante 10 días consecutivos con una sola inyección de PGF2 α administrada el décimo día de tratamiento (Loy R, 1980). En un estudio realizado por Bristol, Jacobs & Pawlyshyn (1983) en el cual utilizaron el protocolo anteriormente mencionado obtuvieron 94,7 % de ovulaciones en los 10 a 16 días luego de finalizado el tratamiento.

Para adelantar la primera ovulación y así acortar la fase transicional en yeguas, Newcombe, (2002) utilizó dispositivos intravaginales liberadores de progesterona (PRID) conteniendo 1,55 g de progesterona y 10 mg de 17 β -estradiol durante una media de 10,9 días, posteriormente fueron retirados. La ovulación ocurrió en una media de 6,6 días luego de retirado el dispositivo (rango, 2-18 días) en el 92% de las yeguas. Cabe destacar que en el trabajo anteriormente mencionado no se utilizaron inductores de la ovulación. Además, dicho autor comunicó que el uso de estos dispositivos tuvo como desventajas malestar y vaginitis en las yeguas tratadas. Sin embargo, Oliveira Filho, Daneze, D'Auria & Schutzer, (2012) utilizaron un dispositivo de P4 y E2 intravaginal en 10 yeguas en anestro, obteniendo un 80% de eficacia sin reacciones adversas en sus animales.

Otro estudio reciente realizado por Macedo & Reis (2020) el cual se esquematiza a continuación, tuvo como objetivo evaluar un protocolo de sincronización hormonal basado en P4 / E2 en yeguas durante la temporada cíclica y no cíclica sobre el comportamiento ovárico / folicular. Los resultados obtenidos en dicho estudio fueron una tasa de ovulación del 88% en yeguas cíclicas y 60% en yeguas en anestro.

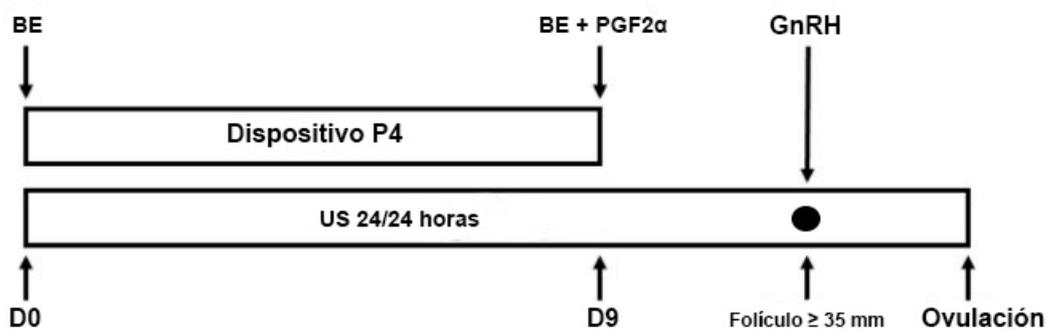


Figura 12. Diseño experimental realizado por Macedo & Reis (2020) de la combinación de P4 y E2. Día 0 (D0), inserción de un dispositivo intravaginal de liberación lenta que contenía 1 g de progesterona (P4) en combinación con la administración de 7 mg de Benzoato de Estradiol (BE) IM. El día 9 (D9), se retiró el dispositivo intravaginal y se inyectó al animal con 0,25 mg de cloprostenol sódico IM y 2 mg de BE IM. El comportamiento folicular se evaluó mediante ecografía transrectal diaria (24/24 h) desde el D0 hasta la ovulación. Cuando el foliculo dominante midió al menos 35 mm, las hembras recibieron una inyección de 0,25 mg de acetato de gonadorelina IM.

Prostaglandina F2 α y sus análogos

El objetivo de la utilización de la PGF2 α y sus análogos en la sincronización del estro y ovulación es sincronizar un grupo de yeguas para servicios en los cuales los padrillos deben ser utilizados en determinado tiempo o momento. Por esta razón se busca que el mayor número de yeguas este en estro en dicho momento. (Hafez & Hafez, 2004) Se ha descrito que la administración de dos dosis de prostaglandina con 14 días de diferencia provoca la sincronización y ovulación de yeguas en un determinado rango de tiempo, la cual ocurre en promedio de 7 a 10 días después de la segunda inyección (Stout Tom, 2011).

SUPRESIÓN DEL ESTRO

Muchos motivos pueden llevar a propietarios, entrenadores, cabañeros a querer suprimir el comportamiento de estro en animales que no van a ser destinados a la reproducción, por el hecho de que la yegua en ese periodo puede comportarse de manera que interfiera con el manejo, el entrenamiento y la competencia. Por tal motivo se recurre al uso de hormonas. Según Vanderwall, (2013) en una encuesta de más de 750 veterinarios, aproximadamente el 90% tenía la impresión clínica de que el ciclo estral afectaba el desempeño de las yeguas, y el signo clínico que relataban con mayor frecuencia era el cambio de actitud, además de sacudir la cola, presentar dificultad para entrenar, orinar en exceso, patear y una disminución en el rendimiento.

Progesterona

La administración intramuscular diaria de 100 mg de progesterona natural oleosa (0,2 mg/kg) suprime eficazmente los signos de estro en las yeguas (Loy & Swan, 1966); sin embargo, la necesidad de administración diaria y el posible dolor en el lugar de la inyección son limitaciones para su uso. La administración intramuscular de una formulación compuesta de progesterona natural de larga acción que contiene una dosis total de 1,5 g de progesterona mantendrá los niveles de progesterona en sangre por encima de 1,0 ng/ml durante aproximadamente 10 días (Vanderwall, Marquardt & Woods 2007), lo que sería un nivel de P4 suficiente para bloquear el comportamiento estral (Loy & Swan, 1966) sin embargo, la posibilidad de dolor en el lugar de la inyección es una limitante para su uso, especialmente en animales deportivos.

Altrenogest

El altrenogest es una progestina sintética que se utiliza con frecuencia en reproducción equina con el fin de suprimir el comportamiento estral. La administración oral diaria de altrenogest a una dosis de 0,044 mg / kg es muy eficaz para suprimir el estro en yeguas (Squires et al., 1979).

En un estudio comparativo realizado por Storer, Thompson, Gilley & Burns (2009) en el cual se evaluaron diferentes formulaciones de altrenogest, informaron que la formulación de 500 mg de altrenogest encapsulado en micro partículas de láctido-glicólido la cual fue diseñada para liberar aproximadamente 16,6 mg/día inhibió la

aparición del estro en al menos 33 días y altrenogest (450 mg) en un vehículo de liberación prolongada (LA 150, 3 ml) inhibió el inicio del estro durante aproximadamente 15 días.

Con respecto a esta progestina en nuestro país existe la desventaja de que no siempre se encuentra disponible comercialmente, además de que tiene un alto costo.

Oxitocina

La administración de 60 UI de oxitocina por vía intramuscular una vez al día en los días 7 (u 8) a 14 después de la ovulación induce una función del CL prolongada en el 60% de las yeguas tratadas, y la misma dosis dos veces al día, induce una función aún más prolongada del CL (50 días) en el 70% de las yeguas lo que puede suprimir el comportamiento estral durante aproximadamente 2 meses (Vanderwall, Parkinson & Rigas 2016).

INDUCCIÓN DE COMPORTAMIENTO DE ESTRO

Estrógeno (E2)

Estudios recientes en yeguas han demostrado que la administración de una dosis única de 2,5 mg de benzoato de estradiol a yeguas en anestro produce una concentración de estrógenos similar a la encontrada en las yeguas cíclicas (Silva et al., 2016). Por lo general, la aparición de signos de comportamiento de estro ocurre de 4 a 12 horas después de la administración lo cual es interesante cuando se quiere usar una yegua como "maniquí" para la recolección de semen, dicha actitud de estro dura por períodos de tiempo variables dependiendo del producto utilizado (48 horas a 2 semanas). El cipionato de estradiol ha sido utilizado en dosis que varían de 1 a 3 mg I.M y 17 β -estradiol en dosis de 0,5 a 1 mg I.M para este propósito. El 17 β -estradiol administrado a yeguas en anestro u ovariectomizadas producirá un comportamiento estral tan temprano como 4 horas luego del tratamiento. Cabe destacar que Incluso con dosis altas (10 a 20 mg) el estradiol no producirá un comportamiento estral en yeguas si el tejido lúteo (progesterona igual o mayor de 1 ng/mL) está presente (Tibary, 2011).

Situación del uso de 17 β -estradiol en Uruguay

Se estableció por resolución ministerial N° 389 de 22 de abril de 2010, que los productos veterinarios formulados en base a Estradiol, quedarían limitados a la comercialización, uso y tenencia únicamente por médicos veterinarios, mediante receta profesional. Posteriormente en el Reglamento de Ejecución (UE) CE 2016/1832 de 17 de octubre de 2016, en su Anexo III, exigió para terceros países exportadores de carne equina hacia la Unión Europea, la prohibición de suministro de Estradiol 17 Beta y sus derivados. La fundamentación de dicha prohibición se basó en que su uso indiscriminado constituye un factor de alto riesgo para la salud humana y animal, teniendo en cuenta que nuestro país exporta la carne equina en su totalidad, y por lo

tanto debe asegurar a los mercados compradores la inocuidad de los mismos. Luego en el año 2017 se estableció en la resolución DGSG/N° 140A/017 que continuaría prohibido el uso y comercialización de 17β-estradiol en la especie equina. En enero de 2021 en la resolución DGSG/N° 269/020 se suspende la importación, elaboración para uso interno, comercialización, tenencia y uso del estradiol en la especie bovina y ovina, además de la equina que continuaría prohibida. En un principio la prohibición ocurrió porque dicha hormona era utilizada como promotor de crecimiento, sin embargo, luego se extendió también a su utilización en el control ovárico. En 2021 existió un gran impacto sobre la producción ganadera, ya que esta hormona era utilizada con frecuencia en protocolos de inseminación a tiempo fijo (IATF) en los cuales se obtenían muy buenos resultados lo que indujo a que se buscaran nuevas alternativas sin su uso.

Según Menchaca, (2021) una estrategia para la especie bovina que facilitaría la solución de dicha prohibición es asociarlo a un sistema de trazabilidad confiable en conjunto con un sistema de trazabilidad de medicamentos veterinarios que permita la farmacovigilancia del estradiol, sin embargo, dicha estrategia no podría utilizarse en la especie equina debido a que no existe trazabilidad en la misma.

Alternativas como llevar un registro de los animales que recibieron dicha hormona y exceptuarlos de ir a frigorífico podrían ser una solución.

En cuanto al uso de Estradiol en reproducción equina, por ejemplo, para la inducción del estro para la colecta de semen de padrillos, no existe una alternativa hormonal homóloga. La única posibilidad es la luteólisis e inducción del celo mediante prostaglandinas, o la antiluteogénesis mediante inyecciones repetidas de prostaglandina en los días siguientes a la ovulación (Coffman et al., 2014). Pero contar siempre con una yegua en estro, y que la misma sea dócil y acostumbrada a la maniobra de colecta de semen, ya sea por estar en estro naturalmente, o inducido mediante luteólisis por prostaglandinas, es un desafío. Además, el uso reiterado de prostaglandinas puede predisponer a la formación de folículos hemorrágicos anovulatorios (Cuervo-Arango & Newcombe, 2010). Hay otras alternativas como puede ser recolectar orina de yeguas en estro y almacenarla para luego utilizarla como estímulo para colectar padrillos con un maniquí.

En el caso de la utilización combinada con P4 con el fin de prolongar la fase lútea, no habría problema en eliminar el uso de estradiol, ya que la P4 sola también tiene buenos resultados.

INDUCCION DE CONTRACTILIDAD UTERINA

La contractilidad del útero es esencial para la limpieza uterina posterior al servicio o inseminación, el parto y la expulsión de las membranas fetales. El fallo en cualquiera de estos procesos puede conducir a una endometritis persistente y una ineficiencia reproductiva. Se espera una endometritis transitoria leve post servicio y una respuesta inflamatoria normal que está controlada por mecanismos de limpieza uterina, sin embargo, cuando existe una persistencia de la misma se retienen líquidos lo que interfiere con la fertilidad. El líquido intrauterino es uno de los signos más precisos de endometritis y puede estar provocado por una falla en la contractilidad uterina (Melrose, Walker & Douglas, 1986), lo que explica por qué los agentes ecbólicos se utilizan ampliamente en los programas de reproducción asistida en yeguas.

Agentes ecbólicos

Estas hormonas estimulan la contractilidad del miometrio, optimizando la eliminación de los residuos remanentes en el útero. Además, ayudan a drenar el útero de los animales que tienen dificultades para expulsar el contenido uterino.

Oxitocina

La oxitocina es el fármaco ecbólico de elección para la reproducción, ya que induce contracciones uterinas de gran amplitud durante un período de aproximadamente 30 minutos durante el estro y dentro de las 48 horas posteriores a la ovulación (LeBlanc, Neuwirth, Mauragis, Klapstein & Tran, 1994). La otra forma en que actúa la oxitocina es unirse directamente a los receptores miometriales y, por lo tanto, promueve la liberación de prostaglandina F2 alfa que también estimula la contractilidad uterina. Los receptores de oxitocina en el miometrio y en el oviducto de las yeguas están presentes en mayor número durante el final del diestro y en el estro (Rigby et al., 1999) por esta razón su efecto disminuye después de la ovulación, ya que el número de receptores varía según la fase del ciclo estral, (mayor en la fase estrogénica y menor en la fase post-ovulatoria). La mayoría de las yeguas responden rápidamente, eliminando el líquido casi de inmediato. A pesar de que la progesterona en la fase post ovulatoria disminuye la contractilidad uterina de la oxitocina, esta es la hormona de elección para el tratamiento de la endometritis post ovulación (Mattos, Maischitzky & Jobim, 2003). La vía de administración influye en el tiempo de respuesta, cuando es administrada de forma intravenosa la oxitocina muestra una respuesta más rápida comparada con la vía intramuscular, sin embargo por vía IM el tiempo de acción es más prolongado. La duración y la fuerza de las contracciones uterinas inducidas por la oxitocina varían según en qué momento del ciclo estral se administra, la dosis, y la vía de administración. Cuando se administra durante el estro y en el período de 48 hs después de la ovulación, las dosis intravenosas de oxitocina que varían de 5 a 20 UI inducen contracciones uterinas de gran amplitud durante aproximadamente 30 a 45 minutos (LeBlanc, 2011), dosis superiores a 25 UI pueden causar contracciones tetánicas. Otra consideración sobre el tratamiento con oxitocina es el día del tratamiento, debido a que las concentraciones altas de progesterona reducen la sensibilidad a la oxitocina uterina, en esos casos se pueden considerar dosis más altas (20 - 25 UI) durante los tratamientos post ovulatorios (Pycok & Newcombe, 1996). Una dosis de 10 UI de oxitocina administrada durante el estro IM, pero antes de la ovulación hace que el útero se contraiga más tiempo que cuando se administraron 5 o 2,5 UI por vía intravenosa (Cadario, Merritt, Archbald, Thatcher & LeBlanc, 1999).

La vida media de la oxitocina es relativamente corta (6,8 minutos) (Paccamonti et al., 1999), por esta razón fue testeado un análogo sintético de oxitocina de acción prolongada, la carbetocina la cual fue bien tolerada en un grupo de yeguas luego de la administración intravenosa de 175 µg. Su vida media es de aproximadamente 17 minutos, o 2,5 veces la de la oxitocina, por lo tanto, este fármaco puede ser beneficioso en los casos que se necesiten contracciones uterinas más prolongadas (Schramme, Pinto, Davis, Whisnant & Whitacre, 2008).

En algunas yeguas, la oxitocina puede no tener un efecto satisfactorio, debido a algunos factores como: bajo número de receptores, útero pendular, cuello uterino cerrado o fibroso (Von Reitzenstein, Callahan, Hansen & LeBlanc, 2002). En este caso, no se debe exceder la dosis recomendada, ya que como fue mencionado

anteriormente la oxitocina cuando se aplica en dosis altas puede causar contracciones tetánicas, resultando en una acumulación de líquido intrauterino (Cadario et al., 1999). Cuando existe este tipo de situación, está indicado el uso de otras drogas ecbólicas, por ejemplo, el Cloprostenol, que según Combs, LeBlanc, Neuwirth y Tran, (1996) produjo una respuesta uterina más consistente que la oxitocina, donde la contracción producida por este fármaco es más prolongada tras su aplicación.

En nuestro país contamos con Hipofamina (Dispert) una oxitocina sintética, la cual está indicada para la especie equina y viene en frascos de 10 y 50 cc. El laboratorio indica una dosis de 40 a 100 UI para este fin. Las vías de administración pueden ser subcutánea, intramuscular e intravenoso.

Prostaglandina F2 α

La PGF2 α es eficaz para aumentar la intensidad de las contracciones uterinas, ayudando en el proceso de limpieza del útero, además de presentar una duración de acción más prolongada (5 horas para cloprostenol). Sin embargo, el cloprostenol puede interferir en la formación normal del cuerpo lúteo, lo que resulta en una menor producción de progesterona y, por lo tanto, una menor tasa de preñez en comparación con el uso de oxitocina. En consecuencia, se recomienda la suplementación con progesterona después del uso de cloprostenol para el propósito anterior (Brendemuehl, 2002).

	Oxitocina	Prostaglandina
Contracciones uterinas	Gran amplitud	Baja amplitud
Tiempo de acción	30-50 min	4 a 5 horas
Utilizar hasta	48 horas post ovulación	24 horas post ovulación
Dosis	10-20 UI	5-10 mg
Vías de administración	IM, IV y SC	IM y SC

Figura 13. Tabla comparativa de los diferentes agentes ecbólicos disponibles.

INDUCCIÓN DE MÚLTIPLES OVULACIONES

Para mejorar la eficiencia reproductiva, una alternativa que se viene estudiando con mayor énfasis en los últimos años es la inducción de ovulaciones múltiples. Los beneficios adicionales de estimular múltiples folículos incluyen un mayor número de folículos disponibles para la recolección de ovocitos, disponibilidad de embriones adicionales para congelación, mejorar la fertilidad en yeguas subfértiles (Squires, 2006). Sin embargo, hay dos razones principales por las que la inducción de múltiples ovulaciones no se ha convertido en una técnica común utilizada en reproducción equina.

1- El ovario de la yegua presenta la corteza en el interior del ovario y la médula hacia la periferia a diferencia de otras especies. Además, el epitelio germinal de la superficie solo recubre una pequeña porción del ovario en el área de la fosa de ovulación (figura 14). Ésta es la única zona en la que el folículo puede romperse (Squires, 2006). La ruptura de la pared del folículo durante la ovulación provoca una discreta hemorragia, consecuentemente la ovulación de múltiples folículos simultáneamente genera una

hemorragia mayor, por lo que se forma un coágulo. Dicho coágulo obstruye la fosa ovulatoria impidiendo el transporte del ovocito hasta el sitio de fertilización. Alteraciones inducidas por el tratamiento de hiperestimulación ovárica puede conducir a la luteinización folicular sin ovulación previa u ovulación con baja recuperación embrionaria cuando ocurren más de cuatro ovulaciones en cada ovario (Finan, Lamkin & McKinnon, 2016). Por esta razón yeguas que son sometidas a terapias hormonales con un alto estímulo ovárico, presentan una alta tasa de ovulación pero una baja tasa de recuperación embrionaria. En vista a este inconveniente los protocolos actuales de múltiples ovulaciones utilizan un estímulo ovárico más discreto (Ignacio, 2018).

2- La otra razón ha sido la falta de disponibilidad de un producto hormonal que induzca de manera confiable múltiples ovulaciones (Squires, 2006).

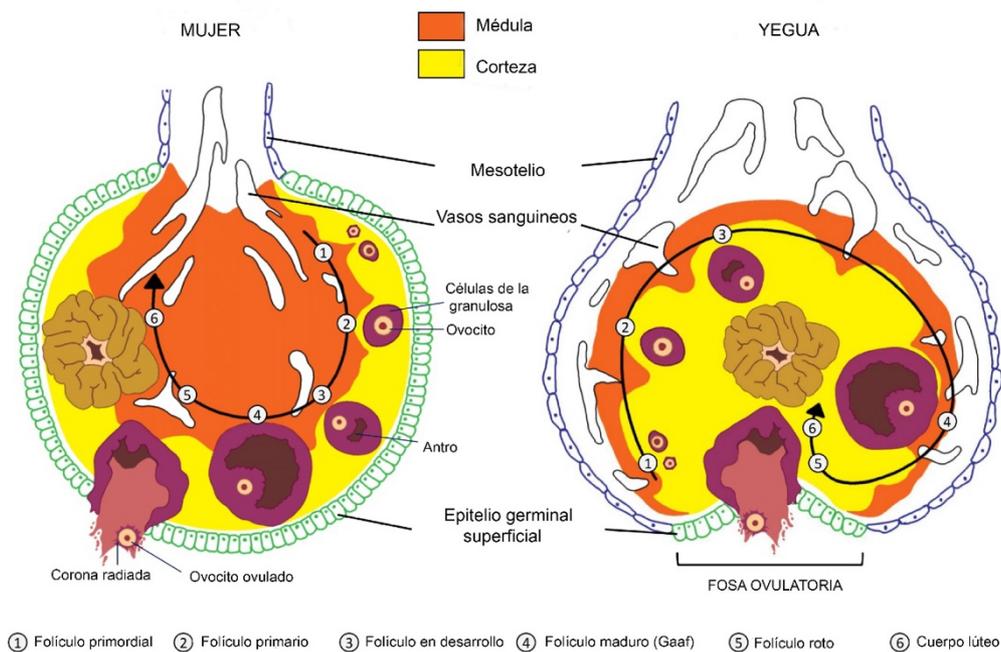


Figura 14. Cortes de ovarios de una yegua y de una mujer. Imagen comparativa. En la imagen se puede apreciar dos cortes de ovarios, el primero de una mujer y el segundo de una yegua. Como se puede observar el ovario de la yegua presenta la corteza en su interior y la médula en la periferia, además presenta solo una porción de epitelio germinal superficial si la comparamos con la mujer y las demás hembras mamíferas. Es por esta particularidad que existen tantos inconvenientes cuando se intenta superovular una yegua. (Imagen extraída y modificada de: Benammar et al., 2021)

Fundamento de la técnica

El fundamento de la técnica se basa en utilizar gonadotropinas exógenas previo al momento de la desviación folicular para estimular a los folículos que irían a regresar a que lleguen al estado de dominantes y puedan ovular, obteniendo de esta forma más de un folículo preovulatorio (Roser y Meyer-Brown, 2012).

Se han probado varias preparaciones de gonadotropinas, como el extracto de pituitaria equina crudo (EPE), FSH equina purificada (eFSH), FSH equina recombinante (reFSH) (Meyers-Brown, Bidstrup, Famula, Colgin & Roser, 2011), FSH porcina purificada, y FSH humana recombinante, administradas en diferentes dosis, vías y momentos durante el ciclo estral, así como también en el período de transición de primavera. Además de las hormonas anteriormente mencionadas también fueron

probadas la hCG, GnRH, análogos de GnRH como la deslorelina, domperidona, sulpirida, PG, e inmunización contra inhibina, que han producido resultados variables pero poco consistentes (Ignacio, 2018).

Bases fisiológicas y momento ideal para iniciar la terapia para múltiples ovulaciones.

Las yeguas son una especie monovular y por lo tanto un folículo se vuelve dominante y varios folículos subordinados retroceden durante la onda folicular primaria del ciclo estral antes de la ovulación (Roser & Meyers-Brown, 2012). La mayoría de las hembras equinas tienen solo una onda folicular que presenta un folículo dominante, que comienza en el medio del diestro. Una cantidad considerable de folículos progresa hasta que el mayor alcanza un diámetro de aproximadamente 23,5 mm. El crecimiento preferencial del folículo más grande parece atribuirse a la secreción de inhibina y estrógeno del folículo dominante, que suprime los niveles de FSH. Una vez que se suprimen los niveles de FSH, los folículos más pequeños se vuelven atrésicos y el folículo dominante continúa creciendo hasta el punto de la ovulación. En un ciclo normal, se produce un pico de FSH cuando el folículo más grande mide aproximadamente 13 mm, y de 3 a 4 días después de la concentración máxima de FSH, se produce la desviación. En el caso de la inducción de múltiples ovulaciones con gonadotrofinas externas no se produciría la desviación y por lo tanto se desarrollan varios folículos hasta el estado de preovulatorio (Squires, 2006).

Acetato de deslorelina (AD)

En un estudio realizado por Azevedo, Souza, Ferreira-Silva & Batista, (2015) las yeguas fueron monitoreadas por ultrasonido dos veces al día hasta que el folículo más grande alcanzó 23-25 mm y el segundo más grande 18 mm, en ese momento se les administro 100 µg de AD en intervalos de 12 horas (con el objetivo de estimular al segundo folículo más grande, ya que cuando un folículo se vuelve dominante inhibe mediante mecanismos propios la secreción de FSH y por lo tanto los demás regresan). Luego se indujo la ovulación cuando el folículo dominante alcanzó los 33-35 mm mediante una inyección intramuscular (IM) de 1000 µg de acetato de deslorelina y 1000 UI de hCG por vía intravenosa (IV). Los autores concluyeron que el tratamiento fue capaz de estimular la inducción de múltiples ovulaciones en el 100% de las donantes. Los resultados obtenidos en el estudio anteriormente mencionado superan los descritos por Nagao et al. (2012) en el cual obtuvo una tasa de múltiples ovulaciones del 85% utilizando GnRH, así como 75% Douglas, (1979), 76,9% Farinasso, (2004), 65% Bonin, (2011) usando EPE.

Gonadotrofinas recombinantes

Las opciones más recientes son las gonadotropinas equinas recombinantes clonadas genéticamente, reFSH y reLH. En un estudio que tuvo por objetivo evaluar la eficacia de la utilización de reFSH en distintas dosis y días de tratamiento se obtuvieron los siguientes resultados: el mayor número de folículos preovulatorios se encontró

utilizando una dosis de 0,85 mg durante 6 días (4,2 folículos) y 0,5 mg durante 7 días (3,2 folículos) (Meyers-Brown et al., 2010).

Cabe destacar que estas gonadotropinas equinas recombinantes clonadas aún no están disponibles comercialmente.

Extracto de pituitaria equina (EPE)

La EPE se ha utilizado durante muchos años para inducir ovulaciones múltiples en yeguas y aumentar la tasa de recuperación de embriones en yeguas donantes en programas de transferencia de embriones (Alvarenga et al., 2008). La EPE es una mezcla de LH y FSH en concentraciones variables extraídas de yeguas sacrificadas en frigoríficos, por lo tanto las concentraciones de las gonadotropinas varían según la época del año. Se han publicado tasas de 1 a 4 ovulaciones por yegua y aproximadamente de 1 a 2 embriones por intento (Douglas, 1979, Woods & Ginther 1984, McCue, 1996). En estudios posteriores utilizando 25 mg de EPE dos veces por día obtuvieron 7.1 ovulaciones por yegua y 3.5 embriones por yegua (Alvarenga, McCue, Bruemmer, Neves Neto & Squires, 2001). En un estudio reciente hecho por Farias et al., (2019) el tratamiento con EPE a la dosis de 7 mg dos veces al día fue eficaz, aumentando la incidencia de ovulaciones múltiples en el 92,9% de las yeguas. Sin embargo algunos problemas con el uso de esta hormona para la inducción de la ovulación son, en primer lugar, que no está aprobado ni disponible comercialmente y en segundo lugar, existe la posibilidad de transmisión de priones como encefalopatías espongiiformes transmisibles (EET).

Cuando se asocia con hCG, la EPE proporciona el crecimiento de un mayor número de folículos, y además tiene un efecto beneficioso sobre su maduración, lo que resulta en un mayor número de ovocitos recuperados con capas de células de la granulosa desarrolladas en hembras sometidas a OPU (Blanco et al., 2009).

Dificultades en la inducción de ovulaciones múltiples

A pesar de todos los esfuerzos para mejorar la eficiencia de los tratamientos superovulatorios, todavía falta un tratamiento superovulatorio consistente y repetible para la especie en estudio. Las razones de esta carencia ciertamente están relacionadas a alteraciones inducidas por los tratamientos como se mencionó anteriormente. Muchos desafíos involucran a la inducción de ovulaciones múltiples en las yeguas y la disponibilidad comercial de las preparaciones es crucial para impulsar cuál es el mejor protocolo a utilizar (Ignacio, 2018).

Los análogos de GnRH y EPE son las únicas hormonas disponibles comercialmente utilizadas en la región con este fin (comunicación personal Profesora Fernanda Ignacio, UNESP 11/05/2021). En nuestro país aún no contamos con dichas hormonas, sin embargo, existen dos análogos de GnRH como él es acetato de buserelina y lecirelina que podrían utilizarse con dicho fin, previo a la divergencia folicular, para estimular a que dos folículos se vuelvan dominantes. Las dosis están especificadas en la sección de inductores de la ovulación.

CONCLUSION

A partir de este trabajo de revisión, se comprueba la importancia de conocer las particularidades del ciclo estral de la especie equina y las posibilidades de los tratamientos hormonales, cuando el objetivo es mejorar la eficiencia reproductiva, promover el mejoramiento genético y aumentar la rentabilidad de las explotaciones. Mediante la aplicación de hormonas exógenas es posible manejar el ciclo reproductivo de la yegua logrando así utilizar de manera más efectiva el periodo cíclico de la misma. Sin embargo, existen varios factores que pueden influir en los resultados de las terapias hormonales, como son la nutrición, sanidad, manejo, entre otros. Además de la experiencia y conocimiento de campo, los constantes avances en investigación en reproducción equina exigen al profesional actuante una constante actualización sobre el tema.

BIBLIOGRAFIA

- Allen, W.R. (1987). Endogenous hormonal control of the mare's oestrus cycle. *Proceedings of the Bain-Fallon Memorial Lectures*, 9, 2–13.
- Allen, W. R., & Rowson, L. E. (1973). Control of the mare's oestrous cycle by prostaglandins. *Journal of Reproduction and Fertility*, 33(3), 539–543. doi: [10.1530/jrf.0.0330539](https://doi.org/10.1530/jrf.0.0330539)
- Almeida Berger de, H. Viana Gonçalves, W., Arruda Paes de, R., & Oliveira Alvarenga de, C. (2001). Sincronização de estro e dinâmica folicular de éguas Crioulas submetidas a tratamentos com norgestomet, acetato de melengestrol e altrenogest. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 38(6), 267-272. doi: [10.1590/S1413-95962001000600004](https://doi.org/10.1590/S1413-95962001000600004)
- Alvarenga, M. A., Carmo, M. T., & Landim-Alvarenga, F. C. (2008). Superovulation in mares: limitations and perspectives. *Pferdeheilkunde*, 24(1), 88.
- Alvarenga, M.A., Farinasso, A., & Rumpf, R. (2005). Utilização de baixas doses de extrato de pituitária equino (EPE) para indução de ovulações múltiplas em éguas. *Acta Scientiae Veterinariae*, 33(supl. 1),135-138.
- Alvarenga, M. A., McCue, P. M., Bruemmer, J., Neves Neto, J. & Squires E. L. (2001). Ovarian superstimulatory response and embryo production in mares treated with equine pituitary extract twice daily. *Theriogenology*, 56, 879-887
- Anbe, H., Okawa, T., Sugawara, N., Takahashi, H., Sato, A., Vedernikov, Y. P., ... Garfield, R. E. (2007). Influence of progesterone on myometrial contractility in pregnant mice treated with lipopolysaccharide. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 33(6), 765–771. doi: [10.1111/j.1447-0756.2007.00653.x](https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2007.00653.x)
- Assad, N. I., Pandey, A. K., & Sharma, L. M. (2016). Oxytocin, functions, uses and abuses: a brief review. *Theriogenology Insight-An*, 6(1), 1-17.
- Aurich, C. (2011). Reproductive cycles of horses. *Animal Reproduction Science*, 124(3- 4), 220-228. doi: [10.1016/j.anireprosci.2011.02.005](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.005)
- Awan, F., Mehmood, M, U., Sattar, A. & Ahmad, N. (2016). Comparative efficacy of hCG or GnRH analogue (lecirelin acetate) on follicular dynamics, degree of endometrial edema, sexual behavior, ovulation and pregnancy rate in crossbred broodmares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 41, 71-72. doi: [10.1016/j.jevs.2016.04.062](https://doi.org/10.1016/j.jevs.2016.04.062).
- Azevedo, M., Souza, N., Ferreira-Silva, J. C., & Batista, I. O. (2015). Induction of multiple ovulations in mares using low doses of GnRH agonist Deslorelin Acetate at 48 hours after luteolysis. *Pferdeheilkunde*, 31, 160-164. doi: [10.21836/PEM20150208](https://doi.org/10.21836/PEM20150208).

- Barbacini, S., Zavaglia, G., Gulden, P., Marchi, V., & Necchi, D. (2000). Retrospective study on the efficacy of hCG in an equine artificial insemination programme using frozen semen. *Equine Veterinary Education*, 12(6), 312-317.
- Bartoli, E. L. (2009). *Uso de Gonodotrofina Coriônica Humana no Controle Reprodutivo de Éguas* (Trabalho de conclusão de curso). Centro Universitário FMU, São Paulo.
- Benammar, A., Derisoud, E., Vialard, F., Palmer, E., Ayoubi, J. M., Poulain, M., & Chavatte-Palmer, P. (2021). The Mare: A Pertinent Model for Human Assisted Reproductive Technologies?. *Animals*, 11(8), 2304. [doi: 10.3390/ani11082304](https://doi.org/10.3390/ani11082304)
- Bergfelt, D. R., Gastal, E. L., & Ginther, O. J. (2001). Response of estradiol and inhibin to experimentally reduced luteinizing hormone during follicle deviation in mares. *Biology of Reproduction*, 65(2), 426–432. [doi: 10.1095/biolreprod65.2.426](https://doi.org/10.1095/biolreprod65.2.426)
- Bergfelt, D. R., Mann, B. G., Schwartz, N. B., & Ginther, O. J. (1991). Circulating concentrations of immunoreactive inhibin and FSH during the estrous cycle of mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 11(6), 319-322.
- Bhurke, A. S., Bagchi, I. C., & Bagchi, M. K. (2016). Progesterone-Regulated Endometrial Factors Controlling Implantation. *American Journal of Reproductive Immunology*, 75(3), 237–245. [doi: 10.1111/aji.12473](https://doi.org/10.1111/aji.12473)
- Bianchi, C. P., Guerrero, R., Dorna, I. V., Cavilla, M. V., & Aba, M. A. (2011). Efecto de un dispositivo intravaginal con progesterona sobre la actividad ovárica en yeguas cíclicas. *InVet*, 13(1), 71-78.
- Blanco, I. D., Devito, L. G., Ferreira, H. N., Araujo, G. H., Fernandes, C. B., Alvarenga, M. A., & Landim-Alvarenga, F. C. (2009). Aspiration of equine oocytes from immature follicles after treatment with equine pituitary extract (EPE) alone or in combination with hCG. *Animal Reproduction Science*, 114(1-3), 203–209. [doi: 10.1016/j.anireprosci.2008.09.002](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.09.002)
- Boakari, Y.L. (2014). *Efeito da hCG ou deslorelina sobre a hemodinâmica folicular e perfil endógeno de LH em éguas cíclicas* (Tesis de maestria). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Bonin B. F. (2011). *Efeito do Tratamento com Extrato de Pituitária Equina na Resposta Ovariana e Eficiência Reprodutiva de Éguas Idosas em Programa de Transferência de Embriões* (Tesis de maestria). Faculdade de Medicina Veterinária Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Brendemuehl, J.P. (2002). Effect of oxytocin and cloprostenol on luteal formation, function and pregnancy rates in mares. *Theriogenology*, 58, 623-626. doi: 10.1016/S0093-691X(02)00837-3
- Brinsko, S. P., Blanchard, T. L., Varner, D. D., Schumacher, J., & Love, C. C. (2010). *Manual of Equine Reproduction*. St. Louis: Elsevier.

- Bristol, F., Jacobs, K.A., & Pawlyshyn, V. (1983). Sincronización del estro en yeguas posparto con progesterona y estradiol 17 β . *Theriogenology*, 19(6), 779-785.
- Brugmans, A.C. (1997). *Investigation on the efficiency of hCG, deslorelin, luprostinol and dinoprost on the termination of ovulation in mares and on pregnancy rates following time interval defined artificial insemination after induction of ovulation with hCG and deslorelin* (Tesis de grado). Hannover University.
- Bruce W. Christensen (2011). Estrogens. En: A.O. McKinnon, E.L. Squires, W.E. Vaala, D.V. Varner, *Equine Reproduction* (2 ed., Vol.2, pp.1631-1635). Chichester: Wiley-Blackwell.
- Cadario, M. E., Merritt, A. M., Archbald, L. F., Thatcher, W. W., & LeBlanc, M. M. (1999). Changes in intrauterine pressure after oxytocin administration in reproductively normal mares and in those with a delay in uterine clearance. *Theriogenology*, 51(5), 1017–1025. [doi: 10.1016/S0093-691X\(99\)00047-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00047-3)
- Cadario, M. E., Thatcher, W. W., Klapstein, E., Merrit, A. M., Archbald, L. F., Thatcher, M. J., & LeBlanc, M. M. (1999). Dynamics of prostaglandin secretion, intrauterine fluid and uterine clearance in reproductively normal mares and mares with delayed uterine clearance. *Theriogenology*, 52(7), 1181–1192. [doi: 10.1016/S0093-691X\(99\)00210-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00210-1)
- Carnevale, E. M., Coutinho da Silva, M. A., Panzani, D., Stokes, J. E., & Squires, E. L. (2005). Factors affecting the success of oocyte transfer in a clinical program for subfertile mares. *Theriogenology*, 64(3), 519–527. [doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.05.008](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.05.008)
- Coffman, E. A., Pinto, C. R. F., Snyder, H. K., Leisinger, C. A., Cole, K., & Whisnant, C. S. (2014). Antiluteogenic effects of serial prostaglandin F2 α administration in cycling mares. *Theriogenology*, 82(9), 1241-1245.
- Colesterol*. (2003). *Miller-Keane Encyclopedia and Dictionary of Medicine, Nursing, and Allied Health* (7^a ed.). Recuperado de <https://medicaldictionary.thefreedictionary.com/Colesterol>
- Combs, G.B., LeBlanc, M.M., Neuwirth, L., & Tran, T.Q. (1996). Effects of prostaglandin F2 α , cloprostenol and fenprostalene on uterine clearance of radiocolloid in the mare. *Theriogenology*, 45(8), 1449-1455. [doi: 10.1016/0093-691X\(96\)00112-4](https://doi.org/10.1016/0093-691X(96)00112-4)
- Cuervo-Arango, J., & Clark, A. (2010). The first ovulation of the breeding season in the mare: the effect of progesterone priming on pregnancy rate and breeding management (hCG response rate and number of services per cycle and mare). *Animal Reproduction Science*, 118(2-4), 265–269. [doi: 10.1016/j.anireprosci.2009.08.008](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.08.008)
- Cuervo-Arango, J., & Newcombe, J. R. (2008). Repeatability of preovulatory follicular diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. *Theriogenology*, 69(6), 681–687. [doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.11.019](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.11.019)

- Cuervo-Arango, J., & Newcombe, J. R. (2010). Risk factors for the development of haemorrhagic anovulatory follicles in the mare. *Reproduction in Domestic Animals*, 45(3), 473-480.
- Cuervo-Arango, J., & Newcombe, J. R. (2012). Ultrasound characteristics of experimentally induced luteinized unruptured follicles (LUF) and naturally occurring hemorrhagic anovulatory follicles (HAF) in the mare. *Theriogenology*, 77(3), 514-524.
- Da Costa, R. R., Branco, V., Pessa, P., Silva, J. R., & Ferreira-Dias, G. (2005). Progesterone receptors and proliferating cell nuclear antigen expression in equine luteal tissue. *Reproduction, Fertility and Development*, 17(6), 659-666.
- de Mestre, A.M., Douglas F., Antczak & Allen, W.R. (Twink). (2011). Equine Chorionic Gonadotropin (eCG). En A.O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala & D. V. Varner, *Equine Reproduction* (2 ed., Vol.2, pp. 1648-1661). Chichester: Wiley-Blackwell.
- Donadeux, F.X. (1997). *Evaluation of Deslorelin during the breeding season and of sulpiride during seasonal anestrus for induction of ovulation in mares* (Tesis de Maestria). Louisiana State University, Baton Rouge
- Donadeu, F. X., & Pedersen, H. G. (2008). Follicle development in mares. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 224-231.
- Donadeu, F. X., & Watson, E. D. (2007). Seasonal changes in ovarian activity: lessons learnt from the horse. *Animal Reproduction Science*, 100(3-4), 225–242. [doi: 10.1016/j.anireprosci.2006.12.001](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.12.001)
- Dordas-Perpinyà, M., Normandin, L., Dhier, T., Terris, H., Cochard, A., Frilley, C., ... Bruyas, J. F. (2020). Single injection of triptorelin or buserelin acetate in saline solution induces ovulation in mares the same as a single injection of hCG. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 55(3), 374–383. [doi: 10.1111/rda.13632](https://doi.org/10.1111/rda.13632)
- Douglas, R.H. (1979). Review of induction of superovulation and embryo transfer in the equine. *Theriogenology*, 11, 33-46. [doi: 10.1016/S0093-691X\(79\)80016-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(79)80016-3)
- Driancourt, M. A. (2001). Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, 55(6), 1211-1239.
- Driancourt, M. A., Paris, A., Roux, C., Mariana, J. C., & Palmer, E. (1982). Ovarian follicular populations in pony and saddle-type mares. *Reproduction, Nutrition, Developpement*, 22(6), 1035–1047. [doi: 10.1051/rnd:19820714](https://doi.org/10.1051/rnd:19820714)
- Duchamp, G., Bour, B., Combarous, Y., & Palmer, E. (1987). Alternative solutions to hCG induction of ovulation in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 35, 221–228.
- Evans, M.J., Gastal, E.L., Silva, L.A., Gastal, M.O., Kitson, N.E., Alexander, S.L., & Irvine, C.H.G. (2006). Plasma LH concentrations after administration of human chorionic gonadotrophin to oestrous mares. *Animal of Reproduction of Science*, 94, 191–194.

- Faria, D., & Gradela, A. (2010). Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina. *Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte*, 34(2),114-122. Recuperado de <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v34n2/p114-122.pdf>
- Farias, D. K., Bunn, S., Friso, A. de M., Thaler Neto, A., Mezzalira, A., ... Mozzaquatro, F.D. (2019). Superovulação em éguas da raça crioula e quarto de milha com extrato de pituitária equina (EPE). *Ciência Animal Brasileira*, 20, e-37582. [doi: 10.1590/1089-6891v20e-37582](https://doi.org/10.1590/1089-6891v20e-37582)
- Farias, L. D., Neves, A. P., Fiala Rechsteiner, S.M. de E., & Tarouco, A. K. (2016). Indução da ovulação em éguas: uma revisão. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 40(1),17-21.
- Farinasso, A. (2004). *Utilização de baixas doses de extrato de pituitária eqüina na indução de ovulações múltiplas em éguas cíclicas* (Tesis de maestria). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília.
- Ferrari, A., Mayid, S., Perez, F., Lopez, D., & Recuero, M. (2012). *Caracterización y potencialidades del sector ecuestre en Uruguay* (Informe final). Montevideo: Uruguay XXI. Recuperado de <https://www.uruguayxxi.gub.uy/uploads/informacion/5237b4387eb33874ada98cc63615189d1f8f6f2f.pdf>
- Ferris,R, A., Hatzel, J.N., Lindholm, A.R.G., Scofield, D.B., & McCue, P.M. (2012). Efficacy of Deslorelin Acetate (SucroMate) on Induction of Ovulation in American Quarter Horse Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 32(59), 285-288. [doi: 10.1016/j.jevs.2011.11.007](https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.11.007)
- Finan, S. A., Lamkin, E. L., & McKinnon, A. O. (2016). Comparative efficacy of BioRelease Deslorelin® injection for induction of ovulation in oestrus mares: a field study. *Australian Veterinary Journal*, 94(9), 338–340. [doi: 10.1111/avj.12478](https://doi.org/10.1111/avj.12478)
- Fleury, P.D.C., Alonso, M.A., Alvarenga, M.A., & Douglas, R.H. (2004). Intervals to ovulation after treatment with oestradiol cypionate (ECP) or biorelease deslorelin (BRT-DES). *Havemeyer Foundation Monograph Series*, (14), 89.
- Freedman, L. J., Garcia, M. C., & Ginther, O. J. (1979). Influence of ovaries and photoperiod on reproductive function in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, (27), 79–86.
- Galvão, A., Valente, L., Skarzynski, D. J., Szóstek, A., Piotrowska-Tomala, K., Rebordão, M. R., ... Ferreira-Dias, G. (2013). Effect of cytokines and ovarian steroids on equine endometrial function: an in vitro study. *Reproduction, Fertility, and Development*, 25(7), 985–997. [doi: 10.1071/RD12153](https://doi.org/10.1071/RD12153)
- Gastal, E. L., Gastal, M. O., Bergfelt, D. R., & Ginther, O. J. (1997). Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. *Biology of Reproduction*, 57(6), 1320-1327.

- Gastal, E. L., Gastal, M. O., Wiltbank, M. C., & Ginther, O. J. (1999). Follicle deviation and intrafollicular and systemic estradiol concentrations in mares. *Biology of Reproduction*, 61(1), 31–39. [doi: 10.1095/biolreprod61.1.31](https://doi.org/10.1095/biolreprod61.1.31)
- Gastal, E. L., Gastal, M. O., & Ginther, O. J. (1998). The suitability of echotexture characteristics of the follicular wall for identifying the optimal breeding day in mares. *Theriogenology*, 50(7), 1025–1038. [doi: 0.1016/s0093-691x\(98\)00205-2](https://doi.org/0.1016/s0093-691x(98)00205-2)
- Gastal, E. L., Gastal, M. O., & Ginther, O. J. (2006). Relationships of changes in B-mode echotexture and colour-Doppler signals in the wall of the preovulatory follicle to changes in systemic oestradiol concentrations and the effects of human chorionic gonadotrophin in mares. *Reproduction (Cambridge)*, 131(4), 699–709. [doi: 10.1530/rep.1.01011](https://doi.org/10.1530/rep.1.01011)
- Gigli, I.; Russo, A. & Agüero, A. (2006). Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. In *Vet*, vol. 8 pp. 183-203. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179114159018>
- Ginther, O.J. (1979). *Reproductive biology of the mare-basic and applied aspects*. Wisconsin: Equiservices, Cross Plains
- Ginther O.J. (1992). *Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects* (2^a ed.). Madison: University of Wisconsin.
- Ginther, O.J. (1993). Major and minor follicular waves during the equine estrous cycle. *Journal of Equine Veterinary Science*, 13, 18–25.
- Ginther, O.J. (2017). Systemic and intrafollicular components of follicle selection in mares. *Domestic Animal Endocrinology*, 59, 116-133.
- Ginther, O. J., Almamun, M., Shahiduzzaman, A. K., & Beg, M. A. (2010). Disruption of the periovulatory LH surge by a transient increase in circulating 17beta-estradiol at the time of ovulation in mares. *Animal Reproduction Science*, 117(1-2), 178–182. [doi: 10.1016/j.anireprosci.2009.04.003](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.04.003)
- Ginther, O.J., Bergfelt, D.R., Beg, M.A., Meira, C., & Kot, K. (2004). In vivo effects of an intrafollicular injection of insulin-like growth factor 1 on the mechanism of follicle deviation in heifers and mares. *Biology of Reproduction*, 70, 99–105.
- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Gastal, M. O., Utt, M. D., & Beg, M. A. (2007). Luteal blood flow and progesterone production in mares. *Animal Reproduction Science*, 99(1-2), 213-220.
- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Gastal, M. O., & Beg, M. A. (2005). Regulation of circulating gonadotropins by the negative effects of ovarian hormones in mares. *Biology of Reproduction*, 73(2), 315–323. [doi: 10.1095/biolreprod.105.040253](https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.040253)

- Ginther, O. J., Gastal, E. L., Gastal, M. O., & Beg, M. A. (2008). Dynamics of the equine preovulatory follicle and periovulatory hormones: what's new?. *Journal of Equine Veterinary Science*, 28(8), 454-460.
- Ginther, O. J., Whitmore, H. L., & Squires, E. L. (1972). Characteristics of estrus, diestrus, and ovulation in mares and effects of season and nursing. *American Journal of Veterinary Research*, 33(10), 1935–1939.
- Gonzales, F.H., & Silva, S.C.(2003). Bioquímica Clínica de Lipídios - As *prostaglandinas*. En *Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária*. Porto Alegre: UFRGS.
- Greco, G. M. (2010). *Avaliação de novos Protocolos visando Induzir e Sincronizar a Ovulação em Éguas* (Tesis de maestria). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Hafez, E. S. E., Jainudeen, M. R., & Rosnina, Y. (2004). Hormônios, fatores de crescimento e reprodução. En E. S. E Hafez, B. Hafez, *Reprodução Animal* (7ª ed., pp. 33-53). São Paulo: Manole.
- Hanlon, D. W., & Firth, E. C. (2012). The reproductive performance of Thoroughbred mares treated with intravaginal progesterone at the start of the breeding season. *Theriogenology*, 77(5), 952-958.
- Hart, P. J., Squires, E. L., Imel, K. J., & Nett, T. M. (1984). Seasonal variation in hypothalamic content of gonadotropin-releasing hormone (GnRH), pituitary receptors for GnRH, and pituitary content of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the mare. *Biology of Reproduction*, 30(5), 1055–1062. [doi: 10.1095/biolreprod30.5.1055](https://doi.org/10.1095/biolreprod30.5.1055)
- Hayes, K. E. N., & Ginther, O. J. (1986). Role of progesterone and estrogen in development of uterine tone in mares. *Theriogenology*, 25(4), 581-590.
- Henderson, I. S., Brama, P., Osborne, M., & Beltman, M. E. (2012). Interovulatory intervals in mares receiving deslorelin implants in Ireland (2009 to 2010). *Veterinary Record*, 170(21), 541. [doi: 10.1136/vr.100386](https://doi.org/10.1136/vr.100386)
- Herrera, E., Mezalira, T., Pinto, A., Sitó, L., Teobaldo, S., Grimas, A., & Campanha, A. (2018). Acetato de deslorelina como agente indutor de ovulação em éguas. *Pubvet*, 12(5), 172. [doi: 10.22256/pubvet.v12n5a88.1-4](https://doi.org/10.22256/pubvet.v12n5a88.1-4)
- Ignacio, F. (2018). Hormonal Applications in Horse Reproduction. En T. Gomes Bergstein-Gakan (Ed.), *Reproduction Biotechnology in Farm Animals* (pp. 98-123). Avidscience. Recuperado de file:///C:/Users/Usuario/AppData/Local/Temp/FinalFile.pdf
- Ingwerson, J. A. (2007). *Induction of ovulation and LH response in cyclic mares treated with gonadorelin diacetate tetrahydrate* (Tesis de maestría). Iowa State University, Ames. Recuperado de <https://lib.dr.iastate.edu/rtd/14897>
- Irvine, C.H. (1993). Prostaglandins. En: A.O. McKinnon, & J. Voss (Eds.), *Equine Reproduction* (pp. 319–323). Chichester: Wiley-Blackwell.

- Irvine, C.H.G., & Alexander, S.L., (1987). A novel technique for measuring hypothalamic and pituitary hormone secretion rates from collection of pituitary venous effluent in the normal horse. *Journal of Endocrinology*, 113,183-192
- Jablonka-Shariff, A., Roser, J. F., Bousfield, G. R., Wolfe, M. W., Sibley, L. E., Colgin, M., & Boime, I. (2007). Expression and bioactivity of a single chain recombinant equine luteinizing hormone (reLH). *Theriogenology*, 67(2), 311-320.
- Jennings, M. W., Boime, I., Daphna-Iken, D., Jablonka-Shariff, A., Conley, A. J., Colgin, M., ... Roser, J. F. (2009). The efficacy of recombinant equine follicle stimulating hormone (reFSH) to promote follicular growth in mares using a follicular suppression model. *Animal Reproduction Science*, 116(3-4), 291–307. doi: [10.1016/j.anireprosci.2009.01.013](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.01.013)
- Johnson, C. A., Thompson, D. L., Jr, & Cartmill, J. A. (2002). Pituitary responsiveness to GnRH in mares following deslorelin acetate implantation to hasten ovulation. *Journal of Animal Science*, 80(10), 2681–2687. doi: [10.2527/2002.80102681x](https://doi.org/10.2527/2002.80102681x)
- Kiser, A.M., Sudderth, A.K., Brinsko, S.P., Burns, P.J., Douglas, R.H., & Blanchard, T.L. (2013). Comparison of efficacy of two dose rates of histrelin for 93 inducing ovulation in broodmares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 33, 820-822.
- Knottenbelt, D., LeBanc, M., Lopate, C., & Pascoe, R. (2003). *Equine stud farm medicine and surgery*. Londres: Elsevier-Saunders.
- Kuhl, J., Aurich, J., & Aurich, C. (2017) Effects of the Prostaglandin F2 α Analogues Cloprostenol and Luprostiol in Combination With hCG on Synchronization of Estrus and Ovulation in Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 57, 67-70. doi: [10.1016/j.jevs.2017.07.004](https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.07.004)
- Lazcano, S., & Pereira, F. (2020). *Semen congelado en equinos: influencia del sitio y la dosis de inseminación sobre el transporte espermático y la respuesta inflamatoria* (Tesis de grado). Universidad de la República, Montevideo. Recuperado de <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/26630>
- LeBlanc, M., Neuwirth, L., Mauragis, D., Klapstein, E., & Tran, T. (1994). Oxytocin enhances clearance of radiocolloid from the uterine lumen of reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. *Equine Veterinary Journal*, 26(4), 279–282. doi: [10.1111/j.2042-3306.1994.tb04387.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1994.tb04387.x)
- LeBlanc, M., & Neuwirth (2011). Oxytocin. En: A.O. McKinnon, E.L. Squires, W.E. Vaala, D.V. Varner, *Equine Reproduction* (2 ed.,Vol.2, pp.1830-1834). Chichester: Wiley-Blackwell.
- Lima, A. G. (2013). Efeitos do tratamento com anti inflamatórios não esteroidais no desenvolvimento folicular em éguas (Tesis de Maestría). Universidade Federal do Espírito Santo, Vitoria.

- Loy, R. G., Buell, J. R., Stevenson, W., & Hamm, D. (1979). Sources of variation in response intervals after prostaglandin treatment in mares with functional corpora lutea. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, (27), 229–235.
- Loy, R. G., & Hughes, J. P. (1966). The effects of human chorionic gonadotrophin on ovulation, length of estrus, and fertility in the mare. *Cornell Veterinarian*, 56(1), 41–50.
- Loy, R. G., & Swan, S. M. (1966). Effects of exogenous progestogens on reproductive phenomena in mares. *Journal of Animal Science*, 25(3), 821–826. doi: [10.2527/jas1966.253821x](https://doi.org/10.2527/jas1966.253821x)
- Macedo, G., & Reis, W. (2020). P4/E2-based protocol for synchronisation of ovulation of mares during the breeding and non-breed. *Tropical Animal Health and Production*, 52, 2647–2651. doi: 10.1007/s11250-020-02286-7
- Malschitzky, E., Mascarenhas, J. M., Macedo G. R., & Costa Mattos, R. (2007) Endometrite na égua, novos conceitos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal (Belo Horizonte)*, 31(1),17-26.
- Mattos, R.C., Malschitzky. E., & Jobim. M.I.M. (2003). Endometrite na égua. *Revista Brasileira de Reprodução Animal (Belo Horizonte)*, 27, 150-157.
- McCue P. M. (1996). Superovulation. *Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 12(1), 1–11.
- McCue, P. M. (2003). Induction of ovulation. En N.E. Robinson, *Current therapy in equine medicine* (pp. 240-242). Philadelphia: Saunders.
- McCue, Scoggin & Lindholm (2011). Estrous. En A. O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala, & D.V. Varner, *Equine Reproduction* (2ª ed., pp.1716-1727). Chichester: Wiley-Blackwell.
- McCue, P., Hudson, J.J., Bruemmer, J. E., & Squires, E.L. (2004). Efficacy of hCG at inducing ovulation: A new look at an old issue. En *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners* (Vol. 50, pp. 510-513). Lexington: AAEP.
- McCue, P. M., Farquhar, V. J., Carnevale, E. M., & Squires, E. L. (2002). Removal of deslorelin (Ovuplant) implant 48 h after administration results in normal interovulatory intervals in mares. *Theriogenology*, 58(5), 865–870. doi: [10.1016/s0093-691x\(02\)00923-8](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(02)00923-8)
- McCue, P.M., Ferris, R.A., & Burden, C.A. (2014). Review of techniques for prediction of ovulation in the mare. *AAEP Proceedings*, 60, 41-44.
- McKinnon, A.O., & McCue, P.M. (2011). Induction of Ovulation. En A. O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala, & D.V. Varner, *Equine Reproduction* (2ª ed., pp.1858-1869). Chichester: Wiley-Blackwell.

- Melo C. M., Papa, F. O., Puoli Filho, J. N. P., Araujo, G. H., Della'Aqua Jr., J. A., & Alvarenga, M. A. (2012). Eficiência do acetato de deslorelina e do extrato de pituitária equina na indução da ovulação em éguas. *Veterinária e Zootecnia*, 19(3), 392-398. Recuperado de <http://hdl.handle.net/11449/141339>.
- Melrose, P. A., Walker, R. F., & Douglas, R. H. (1990). Dopamine in the cerebrospinal fluid of prepubertal and adult horses. *Brain, Behavior and Evolution*, 35(2), 98–106. [doi: 10.1159/000115859](https://doi.org/10.1159/000115859)
- Menchaca, A. (2021). ¿El adiós al estradiol? Crónica de una muerte anunciada. En *Memorias de las 10as Jornadas Taurus de Reproducción Bovina, TAURUS*. Fundación IRAU e Instituto de Reproducción Animal Uruguay, Montevideo Recuperado de <https://www.revistataurus.com.ar/sistema/uploads/1129/entradas/menchaca.pdf>
- Meyers-Brown, G., Bidstrup, L. A., Famula, T. R., Colgin, M., & Roser, J. F. (2011). Treatment with recombinant equine follicle stimulating hormone (reFSH) followed by recombinant equine luteinizing hormone (reLH) increases embryo recovery in superovulated mares. *Animal Reproduction Science*, 128(1-4), 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.09.002>
- Meyers-Brown, G., McCue, P.M., Niswender, K.D., Squires, E. L., DeLuca, C.A., Bidstrup, M. S., ... Roser, J. (2010). Superovulation in Mares Using Recombinant Equine Follicle Stimulating Hormone: Ovulation Rates, Embryo Retrieval, and Hormone Profiles. *Journal of Equine Veterinary Science*, 30, 560-568. doi: 10.1016/j.jevs.2010.09.007
- Morresey R. Peter (2011). Oxytocin, Inhibin, Activin, Relaxin and Prolactin. En A. O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala, & D. V. Varner, *Equine Reproduction* (2ª ed., Vol.2, pp.1679-1684). Chichester: Wiley-Blackwell.
- Nagao, J. F., Neves Neto, J. R., Papa, F. O., Alvarenga, M. A., Freitas-Dell'Aqua, C. P., & Dell'Aqua, J. A. (2012). Induction of double ovulation in mares using deslorelin acetate. *Animal Reproduction Science*, 136(1-2), 69–73. [doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.10.015](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.10.015)
- Nath, L.C. (2011). Reproductive Efficiency. En A. O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala, & D. D. Varner (Eds.). *Equine reproduction* (2ª ed., Vol. 2, pp 2779-2789). Chichester: Wiley-Blackwell.
- Neely, D.P., Liu, M.K.I., & Hillman, B.R. (1990). *Reproducción Equina*. Montevideo: Hemisferio Sur.
- Newcombe, J. R. (2002). Field observations on the use of a progesterone-releasing intravaginal device to induce estrus and ovulation in seasonally anestrous mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 9(22), 378-382.
- Newcombe, J.R. (2011). Human chorionic gonadotropin. En A. O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala, & D. V. Varner, *Equine Reproduction* (2ª ed., Vol.2, pp.1858-1869). Chichester: Wiley-Blackwell.

- Newcombe, J. R., & Cuervo-Arango, J. (2016). Comparison of the efficacy of different single doses of buserelin with hCG for timed ovulation induction in the mare. *Journal of Equine Veterinary Science*, 41, 57. doi: 10.1016/j.jevs.2016.04.030
- Noakes, D.E., Parkinson, T.J., England, G.C., & Arthur, G. H. (2001). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Philadelphia: Elsevier.
- Oliveira Filho, L.R., Daneze, E.R., D'Auria, E., & Schutzer, C.G.C. (2012). Efeito do implante intravaginal de progesterona sobre a ciclicidade de éguas em anestro da raça quarto de milha. *Nucleus Animalium*, 4, 113–120.
- Paccamonti, D. L., Pycock, J. F., Taverne, M. A., Bevers, M., Van Der Weijden, G. C., Gutjahr, S., ... Blouin, D. (1999). PGFM response to exogenous oxytocin and determination of the half-life of oxytocin in nonpregnant mares. *Equine Veterinary Journal*, 31(4), 285–288. doi: [10.1111/j.2042-3306.1999.tb03818.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1999.tb03818.x)
- Padula A.M. (2005). GnRH analogues—agonists and antagonists. *Animal Reproduction Science*, 88(1–2), 115-126. doi: [10.1016/j.anireprosci.2005.05.005](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.05.005)
- Paredes, M. P., Jiménez, C., & Hernández, A. (2012). Estudio del intervalo interovulatorio en yeguas criollas colombianas. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 59(1), 32-48.
- Paredes, P., Jiménez, C., & Hernández, A. (2013). Corpus luteum diameter and serum progesterone level, during the estrous cycle in colombian criollo mares. *Revista MVZ Córdoba*, 18(3), 3829-3835.
- Pinto, R.F.C. (2011). Progestagens and Progesterone. En *Equine reproduction*, (2ª ed., Vol. 2, pp.1811-1818). Chichester: Wiley-Blackwell.
- Pycock, J. F. (2003). Use of ultrasound to stage estrous and predict ovulation. En: N.E. Robinson, *Current therapy in equine medicine 5* (pp. 242-245). Philadelphia: Saunders.
- Pycock, J. F., & Newcombe, J. R. (1996). Assessment of the effect of three treatments to remove intrauterine fluid on pregnancy rate in the mare. *Veterinary Record*, 138(14), 320–323. doi: [10.1136/vr.138.14.320](https://doi.org/10.1136/vr.138.14.320)
- Roser, J. F., & Meyers-Brown, G. (2012). Superovulation in the mare: a work in progress. *Journal of Equine Veterinary Science*, 32(7), 376-386.
- Roser, J.F., & Meyers-Brown, G. (2019). Enhancing Fertility in Mares, Recombinant Equine Gonadotropins. *Journal of Equine Veterinary Science*, 76, 6-13
- Rigby, S., Hill, J., Miller, C., Thompson, J., Varner, D., & Blanchard, T. (1999). Administration of oxytocin immediately after insemination does not improve pregnancy rates in mares bred by fertile or subfertile stallions. *Theriogenology*, 51(6), 1143–1150. doi: [10.1016/s0093-691x\(99\)80017-x](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(99)80017-x)

- Saleh, M. (2011). *Synchronization and Superovulation of Boer Goats with PGF 2 α and GnRH or hCG and Parentage Analysis using Microsatellite Markers* (Tesis). University Göttingen.
- Samper J. C. (2008). Induction of estrus and ovulation: why some mares respond and others do not. *Theriogenology*, 70(3), 445–447. doi: [10.1016/j.theriogenology.2008.04.040](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.040)
- Samper, J. C., Jensen, S., Sergeant, J., & Estrada, A. (2002). Timing of induction of ovulation in mares treated with ovuplant or chorulon. *Journal of Equine Veterinary Science*, 22(7), 320-323.
- Santos, R.S., Marchiori, M.O., Brum, C., Amaral, L.A., Torres, A.J., Boff, A.L.N., & Nogueira, C.E.W. (2008). Eficácia do Acetato de Fertirelina como Indutor de Ovulação em Éguas. En 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Gramado.
- Schramme, A. R., Pinto, C. R., Davis, J., Whisnant, C. S., & Whitacre, M. D. (2008). Pharmacokinetics of carbetocin, a long-acting oxytocin analogue, following intravenous administration in horses. *Equine Veterinary Journal*, 40(7), 658–661. doi: [10.2746/042516408x334343](https://doi.org/10.2746/042516408x334343)
- Scoggin, C. F., Meira, C., McCue, P. M., Carnevale, E. M., Nett, T. M., & Squires, E. L. (2002). Strategies to improve the ovarian response to equine pituitary extract in cyclic mares. *Theriogenology*, 58(1), 151–164. doi: [10.1016/s0093-691x\(02\)00902-0](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(02)00902-0)
- Segabinazzi, L., Oba, E., & Alvarenga, M. A. (2021). The Combination of hCG and GnRH Analog to Hasten Ovulation in Mares Does not Change Luteal Function and Pregnancy Outcome in Embryo Recipient Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 105, 103691. doi: [10.1016/j.jevs.2021.103691](https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103691)
- Sharp, D. C. (2011). Vernal transition into the breeding season. *Equine reproduction* (2^a ed., Vol. 2, pp. 1704-1715). Chichester: Wiley-Blackwell.
- Sharp, D. C., Grubaugh, W. R., Weithenauer, J., Davis, S. D., & Wilcox, C. J. (1991). Effects of steroid administration on pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in ovariectomized pony mares in the early spring: pituitary responsiveness to gonadotropin-releasing hormone and pituitary gonadotropin content. *Biology of Reproduction*, 44(6), 983-990.
- Sherman, G. B., Wolfe, M. W., Farmerie, T. A., Clay, C. M., Threadgill, D. S., Sharp, D. C., & Nilson, J. H. (1992). A single gene encodes the beta-subunits of equine luteinizing hormone and chorionic gonadotropin. *Molecular Endocrinology*, 6(6), 951–959.
- Silva, E., Ignácio, F. S., Fritsch, S. C., Zanoni, D. S., Pantoja, J., Oliveira-Filho, J. P., & Meira, C. (2017). Administration of 2.5 mg of estradiol followed by 1,500 mg of progesterone to anovulatory mares promote similar uterine morphology, hormone concentrations and molecular dynamics to those observed in cyclic mares. *Theriogenology*, 97, 159–169. doi: [10.1016/j.theriogenology.2017.04.031](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.04.031)
- Silva, E. S., Roser, J. F., Gomes, A. R., Fritsch, S. C., Pantoja, J. C., Oliveira-Filho, J. P., & Meira, C. (2016). Comparison of different regimens of estradiol benzoate treatments

followed by long-acting progesterone to prepare noncycling mares as embryo recipients. *Theriogenology*, 86(7), 1749–1756. doi: [10.1016/j.theriogenology.2016.05.041](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.05.041)

Silva, P. C. de A., Oliveira, J. P., Paiva, S. O., Caram, D. F., Junqueira, R. G. de C., Jacob, J. C. F., & Sá, M. A. F. (2016). Comparison between two ovulation-inducing drugs in mares. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, 38(Supl.2), 45–48. Recuperado de <https://rbmv.org/BJVM/article/view/162>

Squires, E. L. (2006). Superovulation in mares. *Veterinary Clinics North America. Equine Practice*, 22, 819-830.

Squires E. L. (2011). Gonadotropin-releasing hormones. En: A.O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala, D. V. Varner, *Equine Reproduction* (2ª ed., vol. 2, pp. 1820-1823). Chichester: Wiley-Blackwell.

Squires, E. L., Carnevale, E. M., McCue, P. M., & Bruemmer, J. E. (2003). Embryo technologies in the horse. *Theriogenology*, 59(1), 151–170. doi: [10.1016/s0093-691x\(02\)01268-2](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(02)01268-2)

Squires, E. L., Stevens, W. B., McGlothlin, D. E., & Pickett, B. W. (1979). Effect of an oral progestin on the estrous cycle and fertility of mares. *Journal of Animal Science*, 49(3), 729–735. doi: [10.2527/jas1979.493729x](https://doi.org/10.2527/jas1979.493729x)

Slusher, S.H., Taylor-MacAllister, C., & Freeman, D.W. (1994). Reproductive management of the mare. Oklahoma State University. Recuperado de <http://www.infovets.com/books/equine/EquineDB/A/Reproductive%20Management%20of%20the%20Mare.pdf>

Staempfli, Simon. (2011). Prostaglandins. En: A.O. McKinnon, E.L. Squires, W.E. Vaala, D.V. Varner, *Equine Reproduction* (2 ed.,Vol.2, pp.1798-1802). Chichester: Wiley-Blackwell.

Stocco, D. M., & Clark, B. J. (1996). Role of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in steroidogenesis. *Biochemical Pharmacology*, 51(3), 197–205. doi: [10.1016/0006-2952\(95\)02093-4](https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)02093-4)

Storer, W. A., Thompson Jr, D. L., Gilley, R. M., & Burns, P. J. (2009). Evaluation of injectable sustained release progestin formulations for suppression of estrus and ovulation in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29(1), 33-36.

Stout Tom (2011). Prostaglandins. En: A.O. McKinnon, E.L. Squires, W.E. Vaala, D.V. Varner, *Equine Reproduction* (2 ed.,Vol.2, pp.1642-1646). Chichester: Wiley-Blackwell.

Tibary, A. (2011). Estrgen therapy. En A.O. McKinnon, E. L. Squires, W. E. Vaala, D. V. Varner, *Equine Reproduction* (2 ed.,Vol.2, pp. 1825-1829). Chichester: Wiley-Blackwell.

- Vanderwall, D. K. (2013). Prolonging function of the corpus luteum to suppress estrus in mares. *AAEP Proceedings*, 59, 342-349.
- Vanderwall, D. K., Marquardt, J. L., & Woods, G. L. (2007). Use of a compounded long-acting progesterone formulation for equine pregnancy maintenance. *Journal of Equine Veterinary Science*, 27(2), 62-66.
- Vanderwall, D. K., Parkinson, K. C., & Rigas, J. (2016). How to use oxytocin treatment to prolong corpus luteum function for suppressing estrus in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 36, 1-4.
- Vanderwall, D. K., Silvia, W. J., & Fitzgerald, B. P. (1998). Concentrations of oxytocin in the concentrations of 13, 14-dihydro-15-keto-prostaglandin F₂α. *Reproduction*, 112(2), 337-346.
- Voge J. L., Sudderth, A. A., Brinsko, S. P., Burns, P. J., & Blanchard, T. L. (2012). Comparison of Efficacy of Two Dose Rates of Histrelin to Human Chorionic Gonadotropin for Inducing Ovulation in Broodmares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 32(4), 208-210. [doi: 10.1016/j.jevs.2011.09.065](https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.09.065)
- Von Reitzenstein, M., Callahan, M. A., Hansen, P. J., & LeBlanc, M. M. (2002). Aberrations in uterine contractile patterns in mares with delayed uterine clearance after administration of detomidine and oxytocin. *Theriogenology*, 58(5), 887–898. [doi: 10.1016/s0093-691x\(02\)00847-6](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(02)00847-6)
- Watson, E. D., Heald, M., Tsigos, A., Leask, R., Steele, M., Groome, N. P., & Riley, S. C. (2002). Plasma FSH, inhibin A and inhibin isoforms containing pro- and -alphaC during winter anoestrus, spring transition and the breeding season in mares. *Reproduction (Cambridge)*, 123(4), 535–542.
- Weems, C. W., Weems, Y. S., & Randel, R. D. (2006). Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *Veterinary Journal*, 171(2), 206-228.
- Wilde, O. R., de la Vega, A. C., & Cruz, M. L. (2002). Uso de un dispositivo intravaginal para el control del estro en yeguas. *Zootecnia Tropical*, 20(4), 483-492.
- Wilson, C. G., Downie, C. R., Hughes, J. P., & Roser, J. F. (1990). Effects of repeated hCG injections on reproductive efficiency in mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 10(4), 301-308.
- Woods G. L. & Ginther O. J. (1984). Collection and transfer of multiple embryos in the mare. *Theriogenology*, 21, 461-469
- Woods, J., Bergfelt, D. R., & Ginther, O. J. (1990). Effects of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic-loss rate in mares. *Equine Veterinary Journal*, 22(6), 410–415. [doi: 10.1111/j.2042-3306.1990.tb04306.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1990.tb04306.x)

- Yoon, M. J., Boime, I., Colgin, M., Niswender, K. D., King, S. S., Alvarenga, M., ... Roser, J. F. (2007). The efficacy of a single chain recombinant equine luteinizing hormone (reLH) in mares: induction of ovulation, hormone profiles, and inter-ovulatory intervals. *Domestic Animal Endocrinology*, 33(4), 470–479. doi: [10.1016/j.domaniend.2007.06.001](https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2007.06.001)
- Z Winter (2007) Características reprodutivas sazonais da égua crioula em uma propriedade á latitude 29°38 S no Rio Grande do Sul. Dissertação de mestrado. Disponível em: <http://repositorio.ufsm.br/handle/1/10212>