

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EFFECTO DE LA CONDICIÓN CORPORAL EN LA ENDOMETRITIS POST SERVICIO  
EN YEGUAS**

**Por**

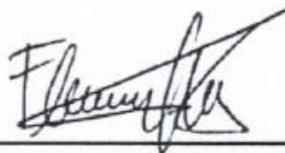
**Lucila VILLAR SANCHEZ VARELA**

TESIS DE GRADO presentada como uno de  
los requisitos para obtener el título de  
Doctor en Ciencias Veterinarias  
Orientación: Medicina Veterinaria  
MODALIDAD: ENSAYO EXPERIMENTAL

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2024**

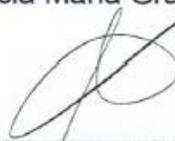
# 1. PAGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:



Presidente de mesa:

Dra. Florencia Maria Graglia Gimenez



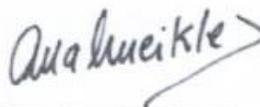
Segundo miembro (Tutor):

Dr. Mateo Pardié



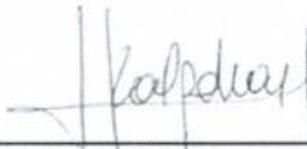
Tercer miembro:

Dr. Nicolas Cazales



Co Tutores:

Dra. Ana Meikle



Dra. Irene Kalpokas

Fecha:

31 de Octubre de 2024

Autores:



Lucila Villar Sánchez Varela

## 2. AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a mis tutores Irene, Mateo y Ana, por apostar por mí, por la formación tanto práctica como académica, por ser grandes ejemplos en mi carrera profesional y personal.

A todos los profesionales que me han transmitido sus conocimientos y experiencias. En particular, a Concepción y Eduardo, quienes me hicieron sentir como en casa durante mi tiempo en el extranjero, y a Fernanda y Milagros, fundamentales en mi desarrollo profesional en mi país.

Quiero destacar el agradecimiento a toda mi familia, que están desde el primer momento apoyándome en todas mis experiencias, por mas locas que sean, siempre fueron un apoyo incondicional y un pilar fundamental en mi vida.

No quiero dejar de agradecer a mis amigas y amigos, mi segunda familia, los de siempre y los nuevos. Gracias por estar ahí en cada paso del camino, celebrando mis logros y animándome en los momentos difíciles. Sin ustedes no hubiera llegado a donde estoy hoy, son quienes me mantuvieron en pie en esta carrera tan larga y para toda la vida.

### 3. TABLA DE CONTENIDO

#### Contenido

1. PAGINA DE APROBACIÓN.....	2
2. AGRADECIMIENTOS.....	3
3. TABLA DE CONTENIDO.....	4
4. LISTA DE FIGURAS.....	5
5. RESUMEN.....	6
4. SUMMARY.....	7
5. INTRODUCCIÓN.....	8
6. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	9
Obesidad y Salud.....	9
Obesidad y Reproducción.....	12
Obesidad y Endometrio.....	12
El ambiente uterino durante el Ciclo Estral.....	13
Endometritis “Fisiológica” Post servicio en la Yegua.....	15
Endometritis Persistente (Fisiopatología y Diagnóstico).....	16
7. CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA.....	19
8. HIPÓTESIS.....	19
9. OBJETIVOS.....	19
Objetivo general.....	20
Objetivos específicos.....	20
10. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
Animales.....	20
Determinación ecográfica del score de edema y líquido intrauterino (LIU).....	21
Recuento de leucocitos.....	22
Análisis estadístico.....	22
11. RESULTADOS.....	22
12. DISCUSIÓN.....	25
13. CONCLUSIONES.....	27
14. REFERENCIAS.....	27

## 4. LISTA DE FIGURAS

Tabla 1. Escala de Condición Corporal (CC) (Henneke et al., 1983).....	10
Figura 1. Adaptado de Aurich, 2011. (a) Concentración de FSH y Estradiol en circulación periférica y tamaño del folículo estimulante. (b) Concentración de LH, Progesterona y Prostaglandina F2alfa en circulación periférica a lo largo del ciclo estral.....	14
Figura 2. Ecografía transrectal. (a) Folículo peri ovulatorio. (b) Edema uterino en yegua en estro (Aurich, 2011).....	14
Figura 3. Score de edema uterino (Samper, 2010).....	15
Figura 4. (a) Edema uterino score 3 (Samper, 2010). (b) Líquido intrauterino. (c) Líquido colectado del útero en tubo Falcon. (d) Materiales para el LBV.....	21
Figura 5. (a) Cámara de Neubauer. (b) Cuadrantes de la cámara donde se realizó el recuento de células. (c) Leucocitos en los cuadrantes.....	22
Figura 6. Score de edema uterino en el momento de la IA (SEIA) y en el lavado uterino a las 8 horas post IA (SEL).....	24
Figura 7. Líquido intrauterino (LIU) en centímetros al momento de la IA y en el lavado uterino a las 8 horas post IA).....	24

## 5. RESUMEN

La endometritis es la principal causa de subfertilidad en yeguas, principalmente la endometritis persistente post servicio, teniendo gran impacto clínico y económico. El uso de la ultrasonografía para la determinación de edema y de líquido intrauterino (LIU), así como la medición de leucocitos son métodos diagnósticos para endometritis. Por otro lado, la obesidad es un problema creciente y dentro de los diversos disturbios asociados a esta condición se ha demostrado la presencia de un estado pro inflamatorio, cuyo impacto en el endometrio ha sido escasamente estudiado aún. En el presente estudio se busca determinar el impacto de la obesidad en la endometritis post servicio. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la condición corporal (CC) y edad sobre la inflamación uterina en yeguas, determinando a través de ecografía transrectal el score de edema uterino y volumen de líquido intrauterino, cuantificando el número de leucocitos en el LIU. Se incluyeron 29 yeguas de diferentes razas, divididas en grupos de acuerdo a su CC y edad: normopeso ( $CC < 7$ ), obeso ( $CC \geq 7$ ), jóvenes ( $< 15$  años) y gerontes ( $\geq 15$  años). Una vez identificados los signos de estro, se les administró un inductor de la ovulación. Luego se realizó inseminación artificial (IA) con semen fresco, registrando el score de edema uterino y LIU previo a la IA. A las 8 horas post IA, se registró nuevamente los datos ecográficos y luego se realizó un lavado de bajo volumen (60 ml PBS), el cual una vez colectado se diluyó en PBS (1:20) y se realizó el recuento de leucocitos en una cámara de Neubauer al microscopio. Los resultados obtenidos mostraron que el score de edema uterino previo a la IA fue afectado por la CC ( $P=0,005$ ), siendo mayor en obesas, y a las 8 horas post IA tendió ( $P=0,07$ ) a ser mayor en obesas. Con respecto al LIU, tendió a ser afectado por la CC ( $P=0,09$ ) y la edad ( $P=0,07$ ) en el momento de la IA, siendo mayor en las obesas y gerontes; y en el momento del lavado también tendió a estar afectado por la CC ( $P=0,14$ ) y edad ( $P=0,13$ ), con el mismo patrón ya mencionado. En cuanto al recuento de leucocitos, por más que no se observaron diferencias significativas de acuerdo a la CC y edad, existió una correlación positiva con el edema ( $r=0,342$ ;  $P=0,07$ ) y LIU ( $r=0,334$ ;  $P=0,06$ ) en el momento del lavado. Por lo tanto, se sugiere que la obesidad y su potencial estado pro inflamatorio consecuente impacta a nivel endometrial.

## 4. SUMMARY

Endometritis is the primary cause of subfertility in mares, particularly persistent post-breeding endometritis, with significant clinical and economic impacts. Ultrasonography for the determination of edema and intrauterine fluid (IUF), as well as leukocyte counts, are diagnostic methods for endometritis. On the other hand, obesity is a growing problem, and among the various disorders associated with this condition, a pro-inflammatory state has been demonstrated, whose impact on the endometrium has been scarcely studied. The present study aims to determine the impact of obesity on post-breeding endometritis. The objective of this study was to evaluate the effect of body condition score (BCS) and age on uterine inflammation in mares, determining through transrectal ultrasonography the uterine edema score and volume of intrauterine fluid, and quantifying the number of leukocytes in the IUF. Twenty-nine mares of different breeds were used, divided into groups according to their BCS and age: normal weight (BCS<7), obese (BCS≥7), young (<15 years) and old (≥15 years). Once signs of estrus were identified, an ovulation inducer was administered. Subsequently, artificial insemination (AI) was performed with fresh semen, recording the uterine edema score and IUF prior to AI. At 8 hours post-AI, the ultrasound data was recorded again, and then a low-volume lavage (60 ml PBS) was performed, which, once collected, was diluted in PBS (1:20) and the leukocyte count was performed in a Neubauer chamber under a microscope. The results obtained showed that the uterine edema score prior to AI was affected by BCS (P=0.005), being higher in obese mares, and at 8 hours post-AI it tended (P=0.07) to be higher in obese mares. With respect to IUF, it tended to be affected by BCS (P=0.09) and age (P=0.07) at the time of AI, being higher in obese and older mares; and at the time of lavage, it also tended to be affected by BCS (P=0.14) and age (P=0.13), with the same pattern already mentioned. Regarding the leukocyte count, although no significant differences were observed according to BCS and age, there was a positive correlation with edema ( $r=0.342$ ;  $P=0.07$ ) and IUF ( $r=0.334$ ;  $P=0.06$ ) at the time of lavage. Therefore, it is suggested that obesity and its consequent potential pro-inflammatory state impact the endometrium.

## 5. INTRODUCCIÓN

La identificación de factores que afectan la fertilidad en el mercado equino es de gran interés para criadores de caballos, principalmente por las consecuencias económicas que contraen (Pasolini et al., 2016). Los intereses de selección de equinos han sido y continúan siendo cada vez más enfocados en características deportivas, morfológicas y de trabajo, dejando de lado las reproductivas. Por esta razón se sabe que la yegua tiene una eficiencia reproductiva baja comparado con otros animales domésticos (Ginther, 1992; Martín, 2020). Dentro de las diferentes etiologías que generan una disminución en la fertilidad, la endometritis es la principal causa de subfertilidad en yeguas (Canisso et al., 2020).

La inflamación del endometrio de las yeguas post servicio es una reacción fisiológica dentro de las primeras 24-48 horas posteriores a la monta o inseminación, cuyo objetivo es deshacerse de restos seminales y microorganismos de la luz uterina –“clearance” uterino– para prepararse para recibir a un embrión (LeBlanc et al., 1994; Troedsson, 2008). Clínicamente, las yeguas se pueden clasificar como susceptibles o resistentes a esta endometritis, dependiendo de la habilidad de superar dicha inflamación dentro del período de tiempo normal (24-48 horas) (LeBlanc et al., 1994; Troedsson, 2008). Las yeguas susceptibles son aquellas en las que la inflamación persiste por más tiempo del normal, lo que se denomina endometritis persistente post servicio (EPPS), siendo una de las principales causas de infertilidad en yeguas (Katila & Ferreira-Dias, 2022).

La ecografía es el método de elección para poder evaluar la fisiología reproductiva de la hembra. El edema uterino y sus variaciones de acuerdo al momento del ciclo estral son parámetros fundamentales de la evaluación reproductiva de las yeguas (Samper, 2010). En el estro se puede detectar presencia de edema y acumulación de líquido intrauterino (LIU) fisiológicos, debido a la acción de los estrógenos, principalmente del estradiol (Adams, 1987; Kenney, 1978). La presencia de semen dentro del útero induce a una rápida quimiotaxis de las células inflamatorias en el endometrio siendo un mecanismo de defensa del sistema inmune innato (Canisso et al., 2020). En yeguas susceptibles, este mecanismo está exacerbado, hay inflamación persistente manifestado ecográficamente por exceso de edema y/o acumulación de LIU, y a nivel celular por un pico de neutrófilos a las 2 y 12 hrs post servicio (Woodward, 2013). El lavado uterino de bajo volumen es una excelente herramienta diagnóstica, en la cual se administra un volumen pequeño (50-60 ml) de cualquier solución fisiológica balanceada, y luego se colecta para realizar el conteo de células, medir reguladores de la inflamación, entre otras funciones (Katila, 2016).

La susceptibilidad a la endometritis está influenciada por varios factores, como por ejemplo la edad, la conformación vulvar, entre otros (Katila & Ferreira-Dias, 2022). Recientemente se ha propuesto a la obesidad como potencial factor predisponente (Hallman et al., 2023) ya que también podría estar influenciada por reguladores inflamatorios como son los hormonales, particularmente por la leptina y adiponectina, factores pro y antiinflamatorios respectivamente (Dos Santos et al., 2015; Kabara et al., 2014; Paz-Filho et al., 2012; Robles et al., 2018). Suagee et al., (2012) describen alteraciones en estas variables en animales obesos, asociándolas a un estado

proinflamatorio sistémico crónico. Existen razas que están claramente predispuestas a la obesidad, siendo la raza Criolla (Cantarelli et al., 2018) y Pura Raza Española (Potter et al., 2021) dos ejemplos.

Si bien el impacto de la obesidad en la reproducción equina ya ha sido demostrado en la revisión reciente realizada por Hallman et al, 2023, el propósito de este trabajo es contribuir con información acerca de aspectos en los que aún falta información.

## **6. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### ***Obesidad y Salud***

La obesidad en equinos es una preocupación creciente, ya que un 24-51% de la población equina mundial es obesa (Thatcher et al., 2008; Jensen et al., 2016). Se define a la obesidad como la presencia de depósitos grasos o como la predisposición a ganar peso (Durham et al., 2019). Esta patología está asociada a desregulación de la insulina (DI), Síndrome Metabólico Equino (SME) y laminitis (Durham et al., 2019). La laminitis es una condición muy frecuente en esta especie, caracterizándose por ser muy dolorosa, tender a la cronicidad y tener un mal pronóstico tanto deportivo como vital (Katz & Bailey, 2012). Si bien tiene una gran variedad de etiologías, se sabe que las dos principales son endócrinas, siendo el Síndrome Metabólico Equino y la Disfunción de la pars intermedia pituitaria las principales responsables (McGowan, 2018). El Síndrome Metabólico Equino es la patología endócrina más frecuente de los equinos (Carslake et al., 2021), y se lo puede definir como el síndrome que agrupa obesidad, DI y laminitis (Durham et al., 2019).

Según la escala de condición corporal (CC) establecida por Henneke et al. (1983) que oscila entre valores del 1 al 9 (Tabla 1), se considera a un equino obeso como aquel con un score corporal mayor a 7. Esta escala es la más aceptada a nivel mundial y se la describe como una herramienta muy útil y sencilla de aplicar. Existe una clara predisposición racial a la obesidad (Morgan et al., 2014). Existen razas que se caracterizan por ser más “rústicas” que otras, algunos ejemplos podrían ser las razas Criolla, Cuarto de Milla y la Pura Raza Española, entre otras (Cantarelli et al., 2018; Potter et al., 2021). Esta predisposición es el resultado de la evolución en ambientes hostiles, donde la reserva de grasa corporal fue esencial para la supervivencia (Lewis et al., 2017). Hoy en día, los genes encargados de esas características continúan presentes, pero el entorno ya no es tan adverso, siendo que al estar sometidos a una alimentación abundante y de buena calidad los animales tienden a la obesidad (McCue et al., 2015; Morgan et al., 2014).

**Tabla 1.** Escala de Condición Corporal (Henneke et al., 1983).

<b>Grado</b>	<b>Definición</b>	<b>Descripción</b>
1	Pobre	Extremadamente emaciado. Procesos espinosos, costillas, base de la cola, tuberosidad coxal e isquiática prominentes. Bases óseas de la cruz, hombros y cuello muy notorias.
2	Muy magro	Emaciado. Leve cubierta grasa sobre los procesos espinosos, los procesos transversos de las vértebras lumbares se palpan redondeados. Procesos espinosos, costillas, base de la cola, tuberosidad coxal e isquiática prominentes. Cruz, hombros y estructuras del cuello levemente discernibles.
3	Magro	Tejido graso que llega hasta la mitad de los procesos espinosos, los procesos transversos no se palpan. Base de la cola prominente, las vértebras no pueden ser identificadas individualmente. Tuberosidad coxal redondeada, fácilmente identificable. No se distingue la tuberosidad isquiática. Cruz, hombros y cuello acentuados.
4	Moderadamente magro	Lomo convexo, no se palpan procesos espinosos. Contorno de las costillas levemente perceptible. Base de la cola puede ser prominente (depende de la conformación); se palpa tejido adiposo a su alrededor. No se identifica tuberosidad coxal. Cruz, hombros y cuello no son obviamente delgados.
5	Moderado (Normopeso)	Lomo "a nivel". Las costillas no se diferencian a la inspección, pero son fácilmente palpables. La grasa alrededor de la base de la cola comienza a sentirse esponjosa. Cruz redondeada por encima de los procesos espinosos. Se nota una continuidad agradable de los hombros y cuello en relación al resto del cuerpo.
6	Moderado (Normopeso)	Puede notarse una leve depresión en el lomo. Se palpa grasa sobre las costillas, siendo esponjosas a la palpación. La grasa sobre la base de la cola se siente blanda. Se comienza a depositar grasa a los lados de la cruz, detrás de los hombros y en el cuello.
7	Sobrepeso	Puede notarse una leve depresión en el lomo. Se palpan las costillas individualmente, con grasa notoria en los espacios intercostales. Grasa en la base de la cola se palpa blanda. Grasa depositada en la cruz, detrás de los hombros y en el cuello.

8	Obeso	Marcada depresión en la línea del lomo. Costillas difícilmente palpables, notorio tejido adiposo en espacios intercostales. Depósitos grasos en la base de la cola se palpan muy blandos. Área alrededor de los hombros con marcados depósitos grasos. Cuello notoriamente engrosado. Depósitos grasos en cara interna de muslos.
9	Extremadamente obeso	Línea muy marcada a lo largo del lomo que lo divide en dos. Parches de depósito graso sobre la parrilla costal. Acúmulos grasos redondeados y que sobresalen sobre la base de la cola, cruz, por detrás de los hombros y a lo largo del cuello. Muslos con marcado depósitos grasos que pueden generar roce entre ellos al caminar. Flancos cubiertos de grasa.

La DI refiere a las alteraciones en la concentración plasmática de insulina, glucosa y lípidos (Durham et al., 2019). Como fue ampliamente establecido en varias especies como en la equina, el tejido adiposo tiene funciones endócrinas como la secreción de leptina, adiponectina y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) que influyen en la regulación de la glucosa (Kearns et al., 2006). En animales con esta condición, se ha comprobado que tienen aumentos de leptina y disminución de adiponectina en plasma (Meier et al., 2020; Meikle et al., 2018). La principal función de la leptina a nivel central es el balance de la CC mediante la regulación del apetito (Van Weyenberg et al., 2013). En los animales obesos, las altas concentraciones de esta hormona demuestran la resistencia de los tejidos blanco a la misma, y consecuentemente un empeoramiento de la obesidad ya existente (Kearns et al., 2006; Van Weyenberg et al., 2013). Por otro lado, la adiponectina tiene funciones protectoras en el organismo como la sensibilización de los tejidos a la insulina y efectos antiinflamatorios, pero en los animales obesos se encuentra disminuida (Kearns et al., 2006). En estas patologías metabólicas asociadas a la obesidad existe un estado de inflamación crónica (Suagee et al., 2012), el cual repercute en el metabolismo de los carbohidratos generando una disminución en la sensibilidad a la insulina (Cortese et al., 2019). Las citoquinas proinflamatorias como el TNF- $\alpha$  contribuyen a este efecto, siendo consideradas mediadores de insulinoresistencia (Suagee et al., 2012).

Conjuntamente, la obesidad también está asociada a otros signos como adiposidad corporal, dislipidemia, hipertensión, aumento de marcadores inflamatorios y alteraciones en el tracto reproductivo en hembras (Durham et al., 2019). La información sobre el impacto de ésta en la reproducción aún escasea (Burns, 2016), y aunque haya ciertas similitudes con el síndrome metabólico en humanos, se han identificado diferencias relevantes (Hoeger et al., 2021; Johnson, 2002).

## ***Obesidad y Reproducción***

Como se describió previamente en varios aspectos de la salud, la obesidad tiene un impacto en la reproducción equina (Burns, 2016; Hallman et al., 2023). En cuanto a la ciclicidad, sabemos que las yeguas obesas tienen mayor duración del ciclo estral y una alterada fase luteal (Sessions et al., 2004; Vick et al, 2006). Las yeguas obesas tienden a continuar ciclando durante el invierno, pero las que entran en anestro lo harían a principios del invierno y tendrían una primera ovulación antes que yeguas normales (D'fonseca et al., 2021; Fitzgerald & McManus, 2000). Con respecto a la gestación, Pardie et al. (2024) observaron que las yeguas obesas mantuvieron su CC a lo largo de toda la gestación, hormonalmente no observaron diferencias en las concentraciones de leptina entre gestadas y no gestadas; y la adiponectina tampoco cambió a lo largo de la gestación, aunque las yeguas obesas tuvieron mayores concentraciones de leptina y menores de adiponectina al compararlas con las normales. Con respecto a la glucosa e insulina, sus concentraciones fueron mayores en las obesas en comparación con las normopesas, lo cual influye como predisponente a disturbios metabólicos como la DI (Pardie et al., 2024; Robles et al., 2018). Estos autores sugieren que la gestación favorece al desequilibrio endocrino-metabólico ya descrito en animales obesos, con el consecuente estado proinflamatorio sistémico. Cabe destacar el impacto de esta condición en la progenie, siendo que hijos de madres obesas estuvieron predispuestos a patologías osteocondrales y alteraciones en el páncreas endócrino (Brabderly et al., 2021; Robles et al., 2018). Finalmente, Kubiak et al. (1991) describen que las yeguas obesas tienen menor producción láctea.

En humanos la obesidad se asocia al síndrome de ovario poliquístico y DI, siendo que pacientes con estas anomalías presentan niveles elevados de estrógenos en sangre (Gambineri et al., 2002). En la yegua los niveles de estrógenos no tienen diferencias significativas entre diferentes condiciones corporales (El-Maaty et al., 2017; El-Maaty et al., 2020). Gambineri et al., 2002 concluye que este fenómeno puede ser explicado por que en la mujer la esteroidogénesis es estimulada por la IGF-1, la cual se ve aumentada en obesas.

## ***Obesidad y Endometrio***

La obesidad en equinos está asociada a un aumento de los marcadores inflamatorios sistémicos (Vick et al., 2007) en las secreciones uterinas y en el endometrio durante la preñez temprana (Burns 2016; D'Fonseca et al., 2021; Pennigton et al., 2020; Sessions-B et al., 2018). También se han identificado aumentos en apoptosis y estrés oxidativo en células endometriales progenitoras, aunque la relevancia clínica aún es incierta (Smieszek et al., 2022). Se sabe que la obesidad y la DI afectan el sistema inmune equino, pero aún se desconocen los mecanismos (Tadros et al., 2013; Vick et al., 2007);

y que la obesidad sin DI u otras alteraciones endócrinas aumenta la producción de especies de oxígeno reactivas por los neutrófilos (Salinas et al., 2020).

En la revisión más reciente realizada por Hallman et al. (2023) sobre obesidad y reproducción no se ha reportado un efecto deletéreo claro en la fertilidad, aunque sugieren que se necesitan más estudios para realizar conclusiones certeras. También destacan que no existe evidencia clara sobre la condición corporal y su efecto en la endometritis en yeguas (Hallman et al., 2023), específicamente en la endometritis inducida por la inseminación artificial.

### ***El ambiente uterino durante el Ciclo Estral***

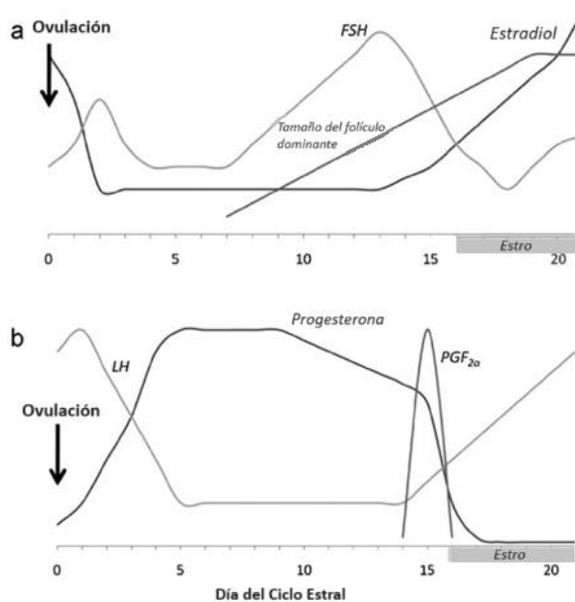
Hormonalmente, el ciclo se divide en la fase folicular y fase luteal. El ciclo estral es controlado por el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal a través de la secreción hipotalámica de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH); a nivel hipofisario se secretan las hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH); y a nivel gonadal se secretan estradiol y progesterona.

La fase folicular se caracteriza por el aumento de la FSH, la cual se encarga del reclutamiento y crecimiento de los folículos (Figura 1). En las yeguas puede haber hasta dos ondas foliculares, y la fase culmina con el desarrollo de un folículo dominante. Éste va a suprimir las concentraciones de FSH mediante la liberación de inhibina y estrógenos (Bergfelt et al., 1991). El folículo preovulatorio crece en promedio 3 mm de diámetro por día, alcanzando entre 35-55 mm previo a la ovulación. Una característica de la yegua es que no existe un marcado pico preovulatorio de LH, sino que tiene un aumento gradual durante el estro hasta la ovulación, y finalmente es interrumpida transitoriamente por el aumento de estradiol (Ginther et al., 2010). Lo anterior sucede porque durante el proceso de la ovulación, el ovocito y la corona radiata ingresan al oviducto mientras el resto del líquido folicular pasa a la cavidad peritoneal, de esta manera es que las hormonas (estradiol, inhibina) se absorben rápidamente a la circulación sistémica y ejercen sus respectivos efectos (Bergfelt et al., 1991). Inmediatamente después de la ovulación hay un aumento de las concentraciones sanguíneas de progesterona (Figura 1), siendo máximas en el día 8 post ovulación y disminuyendo hasta el día 14 cuando se da la luteólisis, en caso de que no ocurra la concepción, para que comience un nuevo ciclo (da Costa et al., 2005). Al igual que en otras especies, el cuerpo lúteo está bajo el control de la LH y progesterona. La señal para la luteólisis es la secreción endometrial de prostaglandina F 2 alfa (PGF2 $\alpha$ ) que es estimulada por la oxitocina y, a diferencia de los rumiantes, es secretada a la circulación sistémica (Aurich, 2011).

El ambiente uterino durante el ciclo estral está regulado por la interacción de las hormonas ováricas (progesterona y estrógenos) que actúan a través de sus respectivos receptores endometriales. Al igual que en rumiantes, la expresión de estos receptores va a estar estimulado por los estrógenos e inhibidos por la progesterona (Hartt et al., 2005).

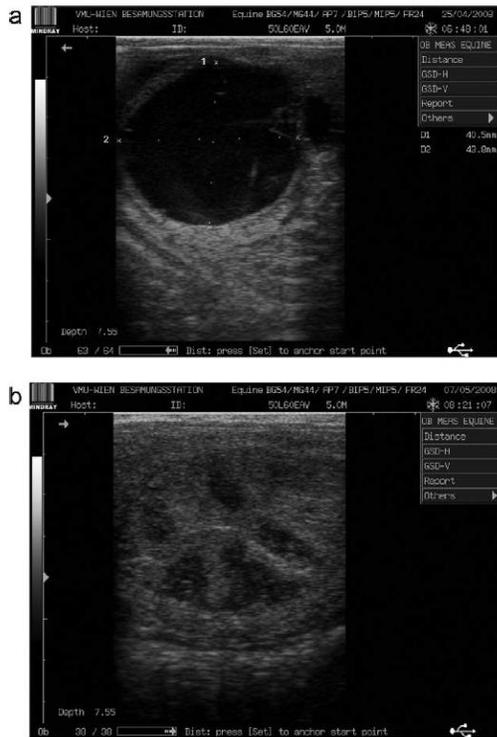
Durante el estro se observan signos como presencia de edema endometrial, relajación uterina y del cérvix, y pequeñas cantidades de líquido intrauterino. El edema uterino se puede identificar ecográficamente a través de la observación de los característicos pliegues endometriales (Figura 2), y se puede clasificar de acuerdo a un score del 0 al 5 establecido por Samper (2010) (Figura 3); durante el celo se presenta un score de 3. Las áreas anecogénicas corresponden a las zonas edematosas, y áreas ecogénicas son las pertenecientes al parénquima uterino (Aurich, 2011; Samper, 2010). Durante el estro, otro de los efectos de los estrógenos es el aumento en la permeabilidad y trasudado de los vasos sanguíneos, lo que genera una baja cantidad de líquido intrauterino considerado normal (Reilas et al., 1998). Por el contrario, durante la fase luteal del ciclo, cuando la hormona predominante es la progesterona, existe un aumento del tono de la pared uterina y el cérvix se encuentra cerrado; ecográficamente se observaría una textura homogénea del parénquima y ausencia de edema uterino (score de 0) y ausencia de líquido (Aurich, 2011). Los anteriores cambios se ven acompañados con otros efectos de estas hormonas a nivel inmune: el efecto pro inflamatorio de los estrógenos y en contraparte, el efecto anti inflamatorio de la progesterona asegurando un ambiente apto para recibir al embrión (Hartt et al., 2005).

**Figura 1.** Adaptado de Aurich, 2011. (a) Concentración de FSH y Estradiol en circulación periférica y tamaño del folículo estimulante. (b) Concentración de LH, Progesterona y Prostaglandina F2alfa en circulación periférica a lo largo del ciclo estral.

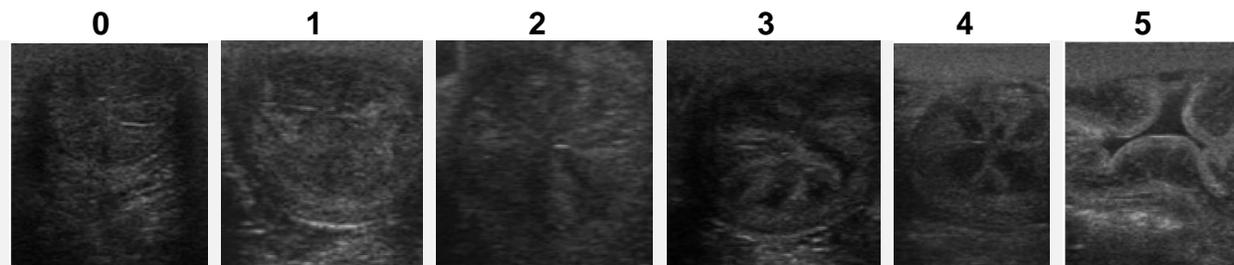


(a) Concentración de FSH y Estradiol en circulación periférica y tamaño del folículo estimulante, y (b) concentración de LH, Progesterona y Prostaglandina F2alfa en circulación periférica a lo largo del ciclo estral.

**Figura 2.** Ecografía transrectal. (a) Folículo peri ovulatorio. (b) Edema uterino en yegua en estro (Aurich, 2011).



**Figura 3.** Score de edema uterino (Samper, 2010).



### ***Endometritis “Fisiológica” Post servicio en la Yegua***

Tal como se describió, durante el celo hay predominio de los estrógenos y el ambiente uterino se prepara para recibir el semen. Troedsson y colaboradores demostraron en 1999 que todas las yeguas desarrollan una endometritis fisiológica en respuesta al semen, a microorganismos y detritos que ingresan al útero durante la monta o inseminación artificial, a la cual llamaron Endometritis Post Servicio (EPS). La presencia de semen desencadena una respuesta del sistema inmune innato, donde hay una migración de neutrófilos al sitio de acción a los 30 minutos luego de la inseminación, con

un pico entre las 6 y 12 horas (Katila & Ferreira-Dias, 2022; Woodward et al., 2013). A este mecanismo se le denomina endometritis post servicio, una inflamación del endometrio “fisiológica” que tiene una duración de 24 a 48 horas (LeBlanc et al., 1994; Troedsson, 2008). Durante este proceso también intervienen otros elementos como las inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgM) (Troedsson, 1999), drenaje linfático y mecanismos físicos (LeBlanc et al., 1994; Troedsson, 2008). Estos mecanismos físicos incluyen la contracción miometrial, la cual es estimulada por la PGF2 $\alpha$ , y la capacidad de apertura del cérvix durante el estro para evitar el acúmulo de líquido dentro del útero (LeBlanc et al., 1994). En conjunto a todos los anteriores procesos se lo define como “clearance uterino” (LeBlanc et al., 1994).

### ***Endometritis Persistente (Fisiopatología y Diagnóstico)***

El proceso inflamatorio fisiológico puede tornarse persistente en casos donde no se resuelve dentro del período de tiempo normal. La denominada Endometritis Persistente Post Servicio (EPPS) se da una vez transcurridas esas 48 horas consideradas fisiológicas, y es un problema ampliamente estudiado hasta la actualidad (Canisso et al., 2020; Troedsson, 1999) con una incidencia que puede llegar al 30% en las yeguas de cría (Katila & Ferreira-Dias, 2022). La yegua tiene una baja eficiencia reproductiva comparado con otras especies de animales domésticos (Martín, 2020). Dentro de todas las diferentes etiologías que generan una disminución en la fertilidad, la endometritis es la principal causa de subfertilidad en yeguas (Canisso et al., 2020).

Las yeguas se las puede clasificar en susceptibles o resistentes a la EPPS, dependiendo de la habilidad de superar dicha inflamación (LeBlanc et al., 1994; Troedsson, 2008). Los factores predisponentes descritos para la EPPS son la conformación vulvar (Hemberg et al., 2005), excesivo líquido intrauterino durante el estro (Brinsko et al., 2003), defectos en contracción miometrial (Troedsson et al., 1993), posición del útero (LeBlanc et al., 1998), resultados de cultivo uterino positivo pre servicio (Riddle et al., 2007) y la edad (Ricketts & Alonso, 1991). Las yeguas gerontes reúnen varios factores predisponentes que las hacen más propensas a desarrollar EPPS, como por ejemplo un útero penduloso que dificulta la eliminación de líquido, un drenaje linfático inadecuado y fibrosis del cérvix que dificulte su relajación (Katila & Ferreira-Dias, 2022). Por otro lado, recientemente se han postulado otros factores que podrían contribuir a la susceptibilidad, como lo es un ambiente proinflamatorio observado en condiciones como la obesidad (Hallman et al., 2023).

En una revisión realizada por Katila (2016), se organizan los diferentes métodos diagnósticos de esta patología en 3 grupos: examinación clínica, toma de muestras uterinas y diagnósticos de laboratorio.

#### **Exploración Clínica**

### *i. Palpación transrectal y Ultrasonografía*

Son métodos de rutina en la reproducción equina, imprescindibles entre sí. La palpación brinda información fundamental sobre el tamaño, tono y posición del útero y del cérvix (LeBlanc & Mckinnon, 2011). Por otro lado, mediante el uso de la ultrasonografía se puede observar el interior del lumen uterino, para detectar edema, LIU, quistes endometriales, incluso preñeces, así como también tomar medidas del diámetro de los cuernos uterinos, entre otras utilidades (Ginther & Pierson, 1984). Lo que se espera observar en una yegua sana en estro es edema (score 3) que va disminuyendo a medida que se acerca la ovulación (Aurich, 2011). Sin embargo, en casos donde se observe un aumento de éste en etapas finales del estro (score mayor a 3) se podría esperar un bajo porcentaje de preñez (Cuervo-Arango & Newcombe, 2010).

Si bien se puede considerar normal encontrar acúmulo de LIU en pequeñas cantidades durante el estro, su persistencia en el tiempo es patológica, ya sea debido a una excesiva producción o un retardo en su eliminación (Katila, 2016). La causa más frecuente de retraso en la eliminación del LIU es una baja actividad miometrial (Troedsson et al., 1993), y cuando existen  $\geq 2$  cm de LIU es indicativo de susceptibilidad, un signo habitual de endometritis (Allen & Pycocock, 1988; Brinsko et al., 2003).

### Muestreo Uterino

#### *i. Hisopado y Cepillado uterino*

Existen diversas herramientas de muestreo uterino, dos de ellas son el hisopo y cepillo ("citobrush"), los cuales se introducen a través de la vagina de la yegua hasta ingresar al útero. Se toman muestras de las paredes uterinas tanto para cultivo bacteriológico como para citología, donde el desafío al retirarlos es evitar la contaminación y un falseo de los resultados (Katila, 2016).

En un estudio realizado por Walter et al. (2012), se evaluaron 3 instrumentos: el catéter metálico Knudsen, un hisopo de cultivo uterino y un cepillo de citología uterino. Llegaron a la conclusión que el método más efectivo para la evaluación citológica del endometrio era el cepillo de citología uterino.

#### *ii. Lavado de Bajo Volumen*

El procedimiento más utilizado es administrar 20-250 ml de suero fisiológico, suero Ringer lactato, o solución salina buferada (PBS) dentro del útero (Katila, 2016). Se considera que esta técnica daría un resultado más representativo que los métodos anteriores, ya que al administrar un líquido se distribuye por todo el lumen endometrial, a diferencia de los anteriores que tenían una llegada más limitada. A pesar que esta técnica no asegura un recorrido del líquido por toda la superficie uterina y que varios autores mencionan no recuperar el 100% del volumen administrado (Ball et al., 1988; Card et al., 2004; LeBlanc et al., 2007), es un mecanismo rápido, sencillo y fidedigno para diagnosticar endometritis, teniendo una sensibilidad de 0,75 y especificidad de 0,9 (LeBlanc et al., 2007).

Es una técnica muy versátil que se puede utilizar para observar diversos marcadores. En primer lugar, la observación macroscópica del líquido colectado podría dar indicios de endometritis a través del grado de turbidez (LeBlanc et al., 2007), el cual fue clasificado por Sikora et al. (2015) como claro, turbio, flujo con mucosidad, o flujo sanguinolento. En el estudio realizado por Cazales et al. (2020), se realizaron lavados de bajo volumen, administrando 60 ml de PBS y al líquido colectado se lo diluyó para el posterior recuento de polimorfonucleares (PMN) en una cámara de Neubauer. En el trabajo de LeBlanc y colaboradores (2007), utilizaron el lavado de bajo volumen para realizar cultivo, observar detritos y también recuento de neutrófilos, comparando los resultados con muestras de biopsia para histopatología, llegando a la conclusión que el lavado de bajo volumen es una técnica sencilla, precisa y fidedigna.

### *iii. Biopsia*

Las muestras de biopsia son tomadas para su posterior evaluación histopatológica o citológica (ver en la siguiente sección de métodos de laboratorio), donde la presencia de PMN ya es indicativo de endometritis aguda, ya que en yeguas normales no se encontrarían estas células fuera de los vasos en el estroma (Kenney, 1978). El procedimiento consiste en introducir una pinza de biopsia a través del cérvix con un espéculo vaginal previamente colocado para tener mejor visualización y precisión. Si bien es un método fidedigno, tiene un alto riesgo de contaminación bacteriana al atravesar la vagina (Lecton et al., 2024; Nielsen, 2005) y la interpretación requiere de cierta experiencia y especialización (VanCamp, 1988).

## Métodos de Laboratorio

### *i. Cultivo bacteriológico*

Para el análisis de la endometritis equina bacteriana se toman muestras uterinas a partir de hisopados, lavados uterinos, cepillado o biopsia para realizar cultivo en condiciones aeróbicas, utilizando el método estándar de incubación en agar sangre a 37°C, durante 24 a 48 horas. El diagnóstico consiste en la observación de las colonias, su tamaño, morfología, pigmentación y hemólisis (Beehan & McKinnon, 2009).

### *ii. Citología*

A través de esta técnica se puede observar la presencia de células epiteliales, PMN, eritrocitos, mucus, bacterias, hongos y levaduras en muestras uterinas, ya sea a partir de hisopados, lavados uterinos, cepillado o biopsia (LeBlanc et al., 2011).

Particularmente para el análisis de los PMN del endometrio hay varias formas de realizar el recuento, pueden contarse el número de células en 10 campos, o pueden contarse 100, 200 o 300 células al microscopio. Los resultados se pueden expresar como número de células totales o como porcentaje de PMN con respecto a células epiteliales (LeBlanc et al., 2011).

### *iii. Histología*

Las muestras de biopsia son fijadas en formalina, pasadas por parafina y luego cortadas en secciones donde se les retira la parafina, se las rehidrata y se las tiñe con hematoxilina y eosina. Luego en la observación microscópica se observan las infiltraciones de PMN en los diferentes estratos del tejido (Kenney, 1978).

## **7. CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA**

La endometritis es la principal causa de subfertilidad en yeguas, siendo de interés mundial por su impacto tanto clínico como económico. Dentro de los métodos de diagnóstico la ultrasonografía es el más utilizado. Los registros de edema y presencia de líquido intrauterino (LIU) son tan fundamentales como las mediciones de los folículos en los programas de reproducción, siendo una manera rápida y sencilla de identificar una yegua problema. La presencia de leucocitos en el endometrio también es indicativa de inflamación y si bien en el LIU se pueden identificar células inflamatorias como polimorfonucleares (PMN), algunos autores han demostrado que las yeguas pueden acumular LIU sin presencia de PMN, y viceversa (de Borba et al., 2012).

Por otra parte, en la actualidad se describe a la obesidad como un problema creciente en esta especie (Jensen et al., 2016; Thatcher et al., 2008). Existen razas claramente predispuestas a la obesidad como la Pura Raza Española, en comparación con otras razas (Potter et al., 2021). Por otra parte, los animales con fines reproductivos no son sometidos a ejercicio físico y generalmente son mantenidos en muy buenos planes nutricionales. Dentro de los diversos disturbios metabólicos a los que esta condición conlleva, el estado pro inflamatorio inducido por la obesidad ha sido demostrado (Suagee et al., 2012). En contraparte, su impacto en el endometrio ha sido escasamente estudiado arrojando datos no concluyentes, lo que sería de suma importancia poder evaluar el efecto de la obesidad particularmente durante el proceso de la endometritis post servicio.

Por lo tanto, el presente estudio busca determinar si la obesidad puede ser considerada un factor predisponente a la endometritis persistente post servicio, siendo que los efectos de la obesidad y sus disturbios inflamatorios en el endometrio de la yegua no gestante no han sido evaluados aún en razas predispuestas a la obesidad.

## **8. HIPÓTESIS**

La obesidad aumentan los signos de inflamación a nivel uterino, siendo éstos el score de edema endometrial, líquido intrauterino y el recuento de células inflamatorias en muestras de líquido intrauterino.

## **9. OBJETIVOS**

## **Objetivo general**

Evaluar el efecto de la condición corporal y la edad en la inflamación uterina en yeguas pre y post inseminación artificial con semen fresco.

## **Objetivos específicos**

Determinar y comparar en grupos de yeguas clasificados por edad y condición corporal:

- El score de edema uterino y la altura de columna de LIU mediante ultrasonografía al momento de la inseminación y a las 8 horas post inseminación.
- El recuento de leucocitos en LIU a las 8 horas post inseminación.

## **10. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Animales**

El protocolo se encuentra aprobado por la CEUA (CEUAFVET-1184 111900-000951-20). El experimento se llevó a cabo en el centro de reproducción equina Callejones del Duende en Aranjuez, Madrid, España; durante 2 temporadas reproductivas, en los meses de Abril, Mayo, Junio y Julio de 2022 y 2023.

Se incluyeron 29 yeguas adultas (rango de edad entre 5-21 años), de diferentes razas (incluyendo la Pura Raza Española), las cuales se dividieron en grupos de acuerdo a la condición corporal (CC) y edad: normopesas (CC<7), obesas (CC≥7), jóvenes (<15 años) y gerontes (≥15 años) (Henneke et al., 1983; Woodward et al., 2012).

	<b>Gerontes (≥15)</b>	<b>Jóvenes (&lt;15)</b>	
<b>Obesas (≥7)</b>	6	11	<b>17</b>
<b>Normopesas (&lt;7)</b>	7	5	<b>12</b>
	<b>13</b>	<b>16</b>	<b>29</b>

Para la selección de los animales se consideró que tuvieran un buen estado de salud general, contaron con una alimentación estimada acorde a la mantención de la CC asignada y tuvieron libre acceso al agua. Los animales estuvieron en un mismo potrero, sometidos al mismo ambiente y manejo durante el ensayo.

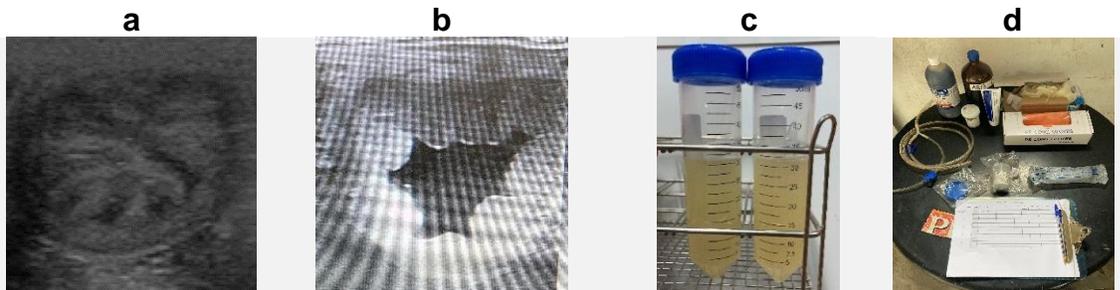
## ***Determinación ecográfica del score de edema y líquido intrauterino (LIU)***

Las yeguas fueron examinadas siempre dentro de un cepo, se realizó el seguimiento ecográfico desde el inicio de la temporada reproductiva. Una vez que el folículo dominante superó los 35 mm con presencia de edema uterino, se administró un inductor de la ovulación (Buserelina, Deslorelina).

Previo al momento de la inseminación artificial con semen fresco, se registró ecográficamente el score de edema (Samper, 2010) y la presencia o ausencia de LIU (Reghini et al. 2016). Luego de realizar una correcta asepsia de la zona perianal y vulvar, se realizó la inseminación artificial con semen fresco a 37°C, diluido con diluyente comercial en la proporción necesaria para llegar a una dosis inseminante standard ( $500 \times 10^6$  espermatozoides con motilidad progresiva) (Brinsko 2006). Se insertaba una cánula de inseminación descartable, que, junto con el brazo del operario dentro de un guante de tacto estéril, se atravesaba el cérvix y depositaba la dosis inseminante dentro del útero.

A las 8 horas post inseminación artificial se tomaron nuevos registros ecográficos de edema, LIU (figura 4, a y b) y ovulación, y se realizó el lavado de bajo volumen (LBV) infundiendo 60 ml de PBS dentro del útero (Wojtysiak et al. 2020). El procedimiento se llevó a cabo realizando la limpieza de la zona perianal y vulvar al igual que en la inseminación, y luego introduciendo una sonda Foley a través del cérvix hasta el útero, se realizaba la insuflación del balón, conectada a otra sonda común para su extensión. En una jeringa estéril se administraron los 60 ml de PBS y luego 20 ml de aire para el vaciamiento de la sonda. Una vez introducido el líquido, se masajeó el útero vía transrectal durante 1 minuto para distribuir el líquido por toda la luz uterina, y luego se colectó el LIU en un frasco estéril, también masajeando. Se vertió el líquido del frasco de colecta a un tubo Falcon (figura 4, c), se registró el volumen y se lo preparó para los siguientes procedimientos.

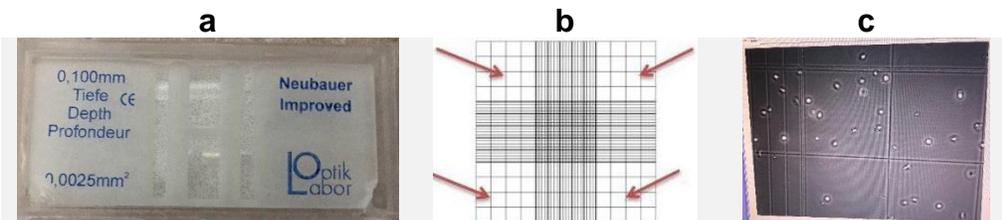
**Figura 4.** (a) Edema uterino score 3 (Samper, 2010). (b) Líquido intrauterino. (c) Líquido colectado del útero en tubo Falcon. (d) Materiales para el LBV.



## Recuento de leucocitos

Una vez colectado el LIU, se tomó una alícuota a la que se le realizó una dilución de 1:20 de PBS para la posterior cuantificación de Leucocitos en una Cámara de Neubauer al microscopio según Cazales et al. (2020). Dentro de la cámara se realizó el recuento en los cuatro cuadrantes extremos para luego promediar los resultados (figura 5).

**Figura 5.** (a) Cámara de Neubauer. (b) Cuadrantes de la cámara donde se realizó el recuento de células. (c) Leucocitos en los cuadrantes.



## Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) y se comprobó la distribución normal de los datos. El número de Leucocitos se evaluó mediante la prueba de Kruskal Wallis. Los valores de altura del líquido intrauterino se analizaron mediante ANOVA para mediciones repetidas, seguido de un diseño de prueba de Tukey-Kramer en el programa SAS mediante el procedimiento de PROC MIXED. El modelo estadístico incluyó grupo CC (normopeso vs. obeso), grupo edad (joven vs. geronte), momento de evaluación (IA vs. 8 hrs post IA) y su interacción. Los datos de score de edema endometrial se evaluaron mediante el método Chi cuadrado. La correlación entre variables se realizó mediante la utilización del test de correlación de Pearson. La significancia se fijó en  $P < 0,05$  y tendencia cuando  $P \leq 0,1$ . Los resultados se muestran como promedios  $\pm$  error estándar.

## 11. RESULTADOS

El score de edema uterino al momento de la inseminación artificial (SEIA) fue afectado por la CC ( $P=0,005$ ), mientras que no fue afectado por la edad ( $P=0,66$ ) ni por su interacción ( $P=0,80$ ). El SEIA fue mayor en yeguas obesas al compararlas con las normopesas ( $2,70 \pm 0,21$  vs.  $1,68 \pm 0,25$ ). La comparación de acuerdo a los grupos se presenta en la Figura 6.

En el score de edema al momento del lavaje uterino a las 8 horas post IA (SEL) se observó una tendencia al comparar los grupos de CC ( $P=0,07$ ) mientras que no fue

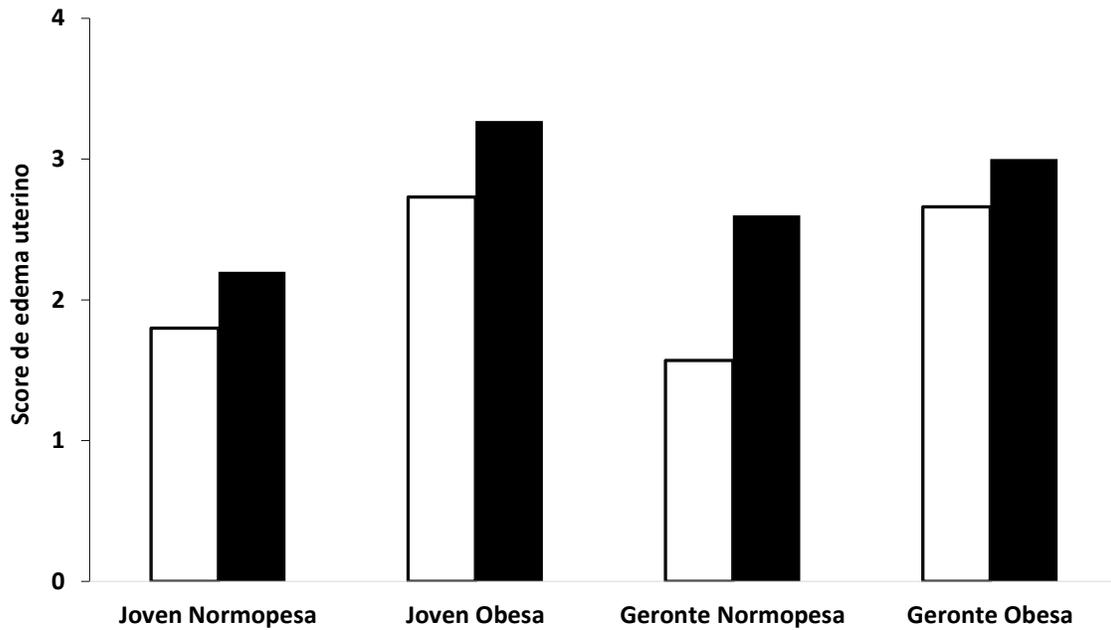
afectado por la edad ( $P=0,90$ ), ni por la interacción ( $P=0,43$ ). El SEL fue mayor en yeguas obesas ( $3,13 \pm 0,26$ ) comparado con las normopesas ( $2,38 \pm 0,30$ ). La comparación de acuerdo a los grupos se presenta en la Figura 6.

El líquido intrauterino al momento de la inseminación artificial (LIUIA) mostró tendencia al comparar los grupos de CC ( $P=0,09$ ) y de edad ( $P=0,07$ ) mientras que no hubo efecto de la interacción. Las yeguas obesas tendieron a un mayor volumen de LIU que las normopesas ( $0,57 \pm 0,17$  vs  $0,24 \pm 0,17$  cm) mientras que las gerontes tuvieron mayor LIU al compararlas con las jóvenes ( $0,57 \pm 0,15$  vs  $0,23 \pm 0,17$  cm). La comparación de acuerdo a los grupos se presenta en la Figura 7.

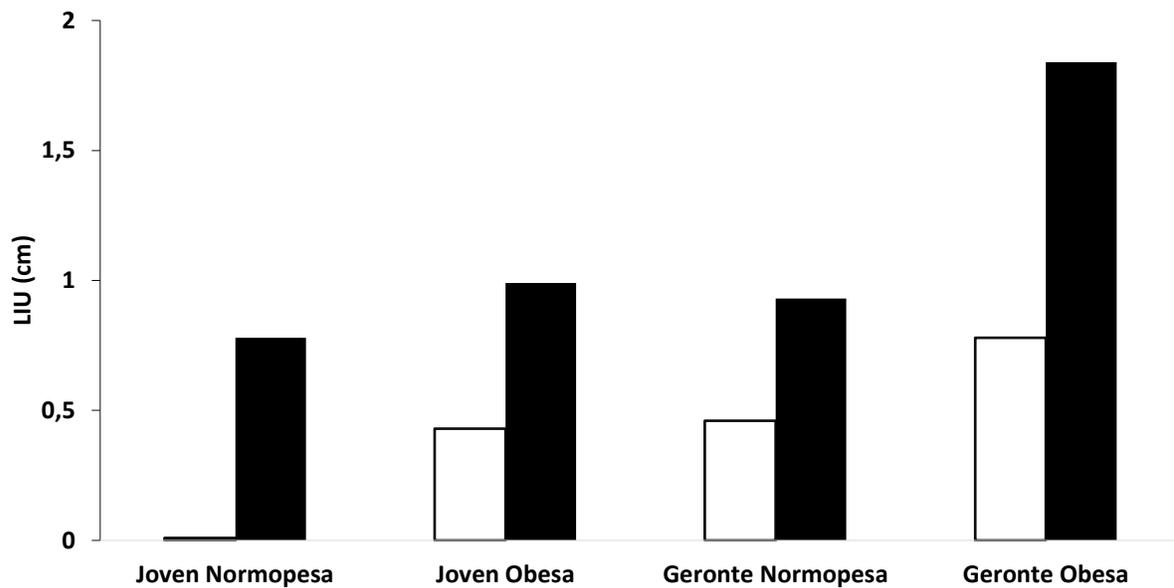
El líquido intrauterino al momento del lavaje uterino (LIUL) tendió a ser afectado tanto por la CC ( $P=0,14$ ) como por la edad ( $P=0,13$ ) mientras que no hubo efecto de su interacción. Las yeguas obesas tendieron a un mayor volumen de LIU a las 8 horas post IA que las normopesas ( $1,4 \pm 0,26$  vs  $0,82 \pm 0,31$  cm). Con respecto a la edad, las gerontes también tuvieron mayor volumen de LIU que las jóvenes ( $1,36 \pm 0,28$  vs  $0,93 \pm 0,29$  cm) a las 8 hrs post IA. La comparación de acuerdo a los grupos se presenta en la Figura 7.

El recuento leucocitario no mostró diferencias significativas al comparar entre los grupos de CC y de edad ( $P=0,78$  y  $P=0,81$ ). Los valores de leucocitos fueron en animales jóvenes y gerontes  $88 \pm 37$  y  $78 \pm 36$  millones de leucocitos/ml respectivamente. Los valores de yeguas obesas y normopesas fueron de  $91 \pm 33$  y  $75 \pm 40$  millones de leucocitos/ml respectivamente.

Existió una tendencia a la correlación positiva de los leucocitos tanto con el SEL ( $r=0,342$ ,  $n=29$ ,  $P=0,06$ ) como con el LIUL ( $r= 0,334$ ,  $n=29$ ,  $P=0,07$ ).



**Figura 6.** Score de edema uterino en el momento de la IA (SEIA, barras blancas) y en el lavado uterino a las 8 horas post IA (SEL, barras negras) en los diferentes grupos de acuerdo a la edad y condición corporal.



**Figura 7.** Líquido intrauterino (LIU) en centímetros al momento de la IA (barras blancas) y en el lavado uterino a las 8 horas post IA (barras negras) en los diferentes grupos de acuerdo a la edad y condición corporal.

## 12. DISCUSIÓN

En el presente estudio, se evidenció el impacto de la obesidad en el endometrio de la yegua no gestante en el entorno a la inseminación artificial (IA), observándose que el edema uterino y el volumen de LIU son afectados por la condición corporal (CC). La obesidad equina es una de las problemáticas más recientes que están siendo investigadas debido a que sus índices poblacionales se encuentran en pleno crecimiento (Rendle et al., 2018), y a que es factor de riesgo de varias patologías como el síndrome metabólico equino (SME), mientras que recientemente se describen varios aspectos reproductivos impactados por el aumento de la CC (Hallman, 2023). Sin embargo, no existía información del efecto de la obesidad durante el proceso de la endometritis inducida por el servicio o inseminación.

En la evaluación ecográfica inmediatamente previo a la IA se observó que las yeguas obesas tuvieron un score de edema mayor que las normopesas. Esto podría deberse al estado proinflamatorio sistémico que presentan los animales obesos (Vick et al., 2007) y que podría generar en el endometrio un estado inflamatorio incluso previo a la inseminación, es decir, independiente del desafío del servicio. Pero, además, las yeguas obesas presentaron una tendencia a mayor score de edema en el momento del lavado uterino (a las 8 horas post IA), lo que sugiere que éstas además tendrían una reacción exagerada al desafío de la inseminación, comportándose de alguna manera como yeguas susceptibles a la endometritis persistente post servicio (EPPS). De hecho, en un estudio previo, esta categoría de yeguas presentó aumentos en la expresión génica endometrial de marcadores inflamatorios en comparación a las yeguas resistentes, tanto en ciclos sin inseminar como posterior a la inseminación (Fumuso et al., 2007). Con respecto al impacto en la fertilidad, en el estudio retrospectivo realizado por Cuervo-Arango & Newcombe (2010), afirman haber tenido una correlación negativa entre el aumento de edema a las 8 horas post estimulación seminal y la tasa de preñez. Con respecto al LIU, se obtuvieron similares resultados, ya que las yeguas obesas tendieron a un mayor volumen de LIU tanto al momento de la IA como en el lavado a las 8 horas. Lo anterior refuerza la hipótesis planteada respecto a la respuesta inflamatoria preexistente y posteriormente exagerada en las yeguas obesas, pero además coincide con los trabajos realizados por Samper (2007 & 2010) quienes reportaron que altos niveles de edema al momento de la ovulación (edema 4-5) estaba relacionado con presencia de LIU post ovulación, resultando en una menor tasa de preñez.

Con respecto a la edad, en nuestro experimento no tuvo impacto en el score de edema. Hay autores que evaluaron la susceptibilidad a la EPPS influenciada por la edad, pero solamente mencionan la medición de edema uterino como indicador de celo (Samper, 2007; Wojtysiak et al., 2020; Woodward et al., 2012). Otros autores como Scarlet et al. (2023), obtuvieron resultados del impacto de la edad, entre otros factores, en la fertilidad y observaron mayor edema en las yeguas añosas al momento de la ovulación tanto pre como post IA, lo cual difiere con el presente ensayo. Por el contrario, nuestros resultados

coinciden con los de Tirpan et al. (2024) quienes no encontraron efecto de la edad en el edema uterino previo a la IA. Respecto al análisis del efecto de la edad en el volumen de LIU, en el presente trabajo hubo tendencia a un mayor volumen de LIU en las yeguas gerontes en comparación con las jóvenes. Esto podría deberse a que las añosas están propensas a presentar fallas en el clearance uterino, siendo el útero penduloso, un inadecuado drenaje linfático y fibrosis del cérvix las principales causas (Carnevale & Ginther, 1992; Katila & Ferreira-Dias, 2022). En el experimento de Carnevale & Ginther, teniendo un grupo de yeguas gerontes (mayores de 15 años), confirmaron las causas físicas que resultan en la observación de mayor volumen de LIU, en concordancia con nuestros resultados.

En el presente ensayo, se realizó el recuento de leucocitos en una cámara de Neubauer y no se observó que la CC ni la edad los afectaran. Lo anterior coincide con los hallazgos de Wojtysiak et al., (2020) quienes afirman que la presencia de LIU durante el estro no estuvo asociado a la migración posterior de PMN. Sin embargo, en el presente trabajo se observó una correlación positiva entre los leucocitos con el LIUL y el SEL, es decir que a medida que éstos aumentaron, también lo hicieron los leucocitos. Cabe destacar que el número de yeguas incluidas en este ensayo podría ser una limitante, por lo que si se incrementara el “n” se podría haber encontrado diferencias significativas. La cámara de Neubauer es una herramienta útil y fácil de utilizar para el clínico a nivel de campo, aunque sería muy útil contar con valores de referencia indicativos de endometritis, así como lo hay en la citología en portaobjetos (Kozdrowski et al., 2015). Si bien hay estudios que reportan el uso de esta técnica para el diagnóstico de endometritis (Cazales et al., 2020) la mayoría de los autores utilizan otras técnicas más complejas (Card et al., 2004; Buczkowska et al., 2014; Nielsen et al., 2005; Woodward et al., 2013), muy eficaces, pero a nivel experimental y de laboratorio, lo que dificulta el diagnóstico rápido de esta condición. Según el trabajo de Woodward et al. (2013), el recuento de PMN fue mayor a las 2 y 12 horas luego de la IA en las yeguas susceptibles comparado con las resistentes. Si bien los autores no encontraron diferencias en el recuento de PMN a las 6 horas post IA entre los grupos, confirman que las 6 horas post IA es el momento crítico para desarrollar susceptibilidad de acuerdo a otros marcadores inflamatorios, siendo esta la razón por la cual en este estudio se realizó la toma de muestras a las 8 horas post IA.

Existen diferentes reportes con respecto a la relación de LIU e inflamación. Por un lado, Brinsko et al. (2003) determinaron que la observación ecográfica de LIU mayor a 2 cm es un buen indicador de susceptibilidad a la EPPS. Por otro lado, de Borba et al. (2012) constatan que una observación ecográfica de LIU menor a 10 mm no es suficiente para comprobar que haya inflamación, mientras que la ausencia de LIU tampoco descarta inflamación. Según nuestros resultados, las mediciones de LIU a las 8 horas post IA oscilaron entre 0,01 y 3,65 cm, y hubo correlación entre el aumento de LIU y edema con la presencia de Leucocitos. Esto podría ser explicado por el efecto de los estrógenos a nivel local, como es el edema, y a nivel inmunológico, por sus características proinflamatorias. En yeguas, la obesidad y la IR se han asociado con ciclos estrales y desarrollo folicular alterados, pero otros autores no informaron ninguna diferencia en la

actividad ovárica ni en el ciclo estral según la puntuación de la CC (Benammar et al., 2021). Hasta el momento no hemos encontrado reportes sobre los niveles circulantes de esteroides sexuales durante el ciclo estral en yeguas obesas por lo que entendemos que futuros estudios deberían evaluar dichas hormonas.

Entendemos que el presente ensayo tiene ciertas limitaciones ya que fue llevado a cabo en un Centro de Reproducción privado, por lo que la elección de yeguas y padrillos estuvo limitada a la demanda del centro y de los propietarios. Una razón por la que no se evaluó la tasa de preñez es porque no todas tuvieron el mismo fin (algunas eran donantes de embriones, por ejemplo), y porque se usaron diferentes padrillos, siendo variables no controladas. No obstante, gran parte de las razas utilizadas eran rústicas, que como se describió en la revisión, están particularmente predispuestas a la obesidad (Martin-Gimenez et al., 2018). La raza criolla, que alcanza el 75 % de los registros de inscripción en nuestro país (DIEA, 2023), es también una raza rústica predispuesta a la obesidad (Paz et al., 2013), por lo que entendemos que la información generada en el presente estudio aporta información de impacto y extrapolable a la práctica veterinaria reproductiva nacional.

Entendemos que los resultados obtenidos fueron suficientes para comprobar nuestra hipótesis inicial. Con las herramientas que tienen los veterinarios a diario se pueden identificar signos de susceptibilidad a EPPS en yeguas obesas para poder comenzar un tratamiento a tiempo y obtener mejores resultados en eficiencia reproductiva.

### **13. CONCLUSIONES**

La obesidad, evidenciada por una alta condición corporal, produce un impacto a nivel uterino, generando un aumento de los signos de inflamación como el edema uterino y el líquido intrauterino en las yeguas post inseminación artificial. Se sugiere que las yeguas obesas aumentan la reacción inflamatoria al desafío de la inseminación, propiciando ser más susceptibles a la endometritis persistente post servicio.

### **14. REFERENCIAS**

- Adams G. P., Kastelic J. P., Bergfelt D. R., & Ginther O. J. (1987). Effect of uterine inflammation and ultrasonically-detected uterine pathology on fertility in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, **35**, 445-454.
- Allen, W. E., & Pycock, J. F. (1988). Cyclical accumulation of uterine fluid in mares with lowered resistance to endometritis. *Veterinary Record*, *122*(20), 489-490.
- Aurich, C. (2011). Reproductive cycles of horses. *Animal Reproduction Science*, *124*(3-4), 220–228. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.005>.

- Ball, B. A., Shin, S. J., Patten, V. H., Lein, D. H., & Woods, G. L. (1988). Use of a low-volume uterine flush for microbiologic and cytologic examination of the mare's endometrium. *Theriogenology*, 29(6), 1269-1283.
- Beehan, D. P., & McKinnon, A. O. (2009). How to diagnose common equine reproductive tract bacterial pathogens using chromogenic agar. *AAEP Proceedings*, 55, 320-325.
- 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.
- 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.
- Bradbery, A. N., Coverdale, J. A., Hartz, C. J., Millican, A. A., Goehring, M. S., Fikes, K. K., Picking, E., Hammer, C. J., Dunlap, K. A., Cardoso, R. C., Wickersham, T. A., Leatherwood, J. L., & Satterfield, M. C. (2021). Effect of maternal overnutrition on predisposition to insulin resistance in the foal: Maternal parameters and foal pancreas histoarchitecture. *Animal Reproduction Science*, 227, 106720. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106720>.
- Brinsko, S. P. (2006). Insemination doses: how low can we go? *Theriogenology*, 66(3), 543–550. <https://doi-org.proxy.timbo.org.uy/10.1016/j.theriogenology.2006.04.026>.
- Brinsko, S. P., Rigby, S. L., Varner, D. D., & Blanchard, T. L. (2003). A practical method for recognizing mares susceptible to post-breeding endometritis. *AAEP Proceedings*, 49, 363-365.
- Buczowska, J., Kozdrowski, R., Nowak, M., Raś, A., Staroniewicz, Z., & Siemieniuch, M. J. (2014). Comparison of the biopsy and cytobrush techniques for diagnosis of subclinical endometritis in mares. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12, 1-6.
- Burns, T. A. (2016). Effects of common equine endocrine diseases on reproduction. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, 32(3), 435-449.
- Canisso, I. F., Segabinazzi, L. G., & Fedorka, C. E. (2020). Persistent Breeding Induced Endometritis in Mares—A Multifaceted Challenge: From Clinical Aspects to Immunopathogenesis and Pathobiology. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1432. <https://doi.org/10.3390/ijms21041432>.
- Cantarelli, C., Dau, S. L., Stefanello, S., Azevedo, M. S., De Bastiani, G. R., Palma, H. E., Brass, K. E., & De La Côte, F. D. (2018). Evaluation of oral sugar test response for detection of equine metabolic syndrome in obese Crioulo horses. *Domestic Animal Endocrinology*, 63, 31-37. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2017.10.006>.

- Card, C., Carley, S., Green, J., & Chirino-Trejo, M. (2004). Endometrial cytology in mares bred with frozen semen. *AAEP Proceedings*, 50, 505-509.
- Carnevale, E. M., & Ginther, O. J. (1992). Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology*, 37(5), 1101-1115. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(92\)90108-4](https://doi.org/10.1016/0093-691x(92)90108-4).
- Carslake, H. B., Pinchbeck, G. L., & McGowan, C. M. (2021). Equine metabolic syndrome in UK native ponies and cobs is highly prevalent with modifiable risk factors. *Equine Veterinary Journal*, 53(5), 923-934. <https://doi.org/10.1111/evj.13378>.
- Cazales, N., Estradé, M. J., Pereyra, F., Fiala-Rechsteiner, S. M., & Mattos, R. C. (2020). Sperm transport and endometrial inflammatory response in mares after artificial insemination with cryopreserved spermatozoa. *Theriogenology*, 158, 180-187.
- Cortese, L., Terrazzano, G., & Pelagalli, A. (2019). Leptin and immunological profile in obesity and its associated diseases in dogs. *International Journal of Molecular Science*, 20(10), 2392. <https://doi.org/10.3390/ijms20102392>.
- Cuervo-Arango, J., & Newcombe, J. R. (2010). Effect of changes in endometrial edema score following mating on pregnancy rate in the mare. *Animal Reproduction Science*, 121(Suppl.), S115-S117.
- D'Fonseca, N. M., Gibson, C. M., Hummel, I., van Doorn, D. A., Roelfsema, E., Stout, T. A., van den Broek, J., & de Ruijter-Villani, M. (2021). Overfeeding extends the period of annual cyclicity but increases the risk of early embryonic death in shetland pony mares. *Animals*, 11(2), 361.
- 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 Borba, E. V. C., Camozzato, G. C., Malschitzky, E., Bustamante-Filho, I. C., Martins, A. A., Mattos, R. C., & Neves, A. P. (2012). Is the presence of uterine fluid a reliable indicator of endometrial inflammation? *Pferdeheilkunde*, 28(1), 27-29.
- Dirección de Estadísticas Agropecuarias. (2023). *Anuario estadístico agropecuario 2023*. MGAP. <https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2023/ANUARIO2023WEB.pdf>.
- Dos Santos, E., Duval, F., Vialard, F., & Dieudonné, M. N. (2015). The roles of leptin and adiponectin at the fetal-maternal interface in humans. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 24(1), 47-63.
- Durham, A. E., Frank, N., McGowan, C. M., Menzies-Gow, N. J., Roelfsema, E., Vervuert, I., Feige, K., & Fey, K. (2019). ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(2), 335-349.
- El-Maaty, A. M. A., Mohamed, A. H., Abu-Aita, N. A., & Morgan, H. M. (2017). Markers for predicting overweight or obesity of broodmares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 56, 9-18.

- El-Maaty, A. M. A., Shafey, H. I., Daneva, T., Hozyen, H. F., El-Debaky, H., Alam, S., Mahrous, K.F., & ElSisy, G. A. (2020). Relation of leptin gene polymorphism to the circulating leptin, insulin, estradiol, and progesterone hormones in mares with high rump fat. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 10(2), 105-110.
- Fitzgerald, B. P., & McManus, C. J. (2000). Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. *Biology of Reproduction*, 63(1), 335-340.
- Fumuso, E. A., Aguilar, J., Giguère, S., Rivulgo, M., Wade, J., & Rogan, D. (2007). Immune parameters in mares resistant and susceptible to persistent post-breeding endometritis: effects of immunomodulation. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 118(1-2), 30-39.
- Gambineri, A., Pelusi, C., Vicennati, V., Pagotto, U., & Pasquali, R. (2002). Obesity and the polycystic ovary syndrome. *International Journal of Obesity*, 26(7), 883-896.
- Ginther, O. J. (1992). *Reproductive biology of the mare: Basic and applied aspects* (2<sup>nd</sup> ed.). Equiservices.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.04.003>.
- Ginther, O. J., & Pierson, R. A. (1984). Ultrasonic anatomy and pathology of the equine uterus. *Theriogenology*, 21(3), 505-516.
- Hallman, I., Karikoski, N., & Kareskoski, M. (2023). The effects of obesity and insulin dysregulation on mare reproduction, pregnancy, and foal health: a review. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1180622. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1180622>.
- Hartt, L. S., Carling, S. J., Joyce, M. M., Johnson, G. A., Vanderwall, D. K., & Ott, T. L. (2005). Temporal and spatial associations of oestrogen receptor alpha and progesterone receptor in the endometrium of cyclic and early pregnant mares. *Reproduction*, 130(2), 241-250.
- Hemberg, E., Lundeheim, N., & Einarsson, S. (2005). Retrospective study on vulvar conformation in relation to endometrial cytology and fertility in thoroughbred mares. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, 52(9), 474-477. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2005.00760.x>.
- Henneke, D. R., Polter, G. D., Kreider, J. L., & Yeates, B. F. (1983). Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Veterinary Journal*, 15(4), 371-372.
- Hoeger, K. M., Dokras, A., & Piltonen, T. (2021). Update on PCOS: consequences, challenges, and guiding treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 106(3), e1071-e1083.

- Jensen, R. B., Danielsen, S. H., & Tauson, A. H. (2016). Body condition score, morphometric measurements and estimation of body weight in mature Icelandic horses in Denmark. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *58*, 19-23.
- Johnson, P. J. (2002). The equine metabolic syndrome: Peripheral Cushing's syndrome. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, *18*(2), 271-293.
- Kabara, E., Sordillo, L. M., Holcombe, S., & Contreras, G. A. (2014). Adiponectin links adipose tissue function and monocyte inflammatory responses during bovine metabolic stress. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, *37*(1), 49-58.
- Katila, T. (2016). Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis. *Reproductive Biology*, *16*(3), 189–196. <https://doi-org.proxy.timbo.org.uy/10.1016/j.repbio.2016.06.00>.
- Katila, T., & Ferreira-Dias, G. (2022). Evolution of the concepts of endometrosis, post breeding endometritis, and susceptibility of mares. *Animals*, *12*(779), 779. <https://doiorg.proxy.timbo.org.uy/10.3390/ani12060779>.
- Katz, L. M., & Bailey, S. R. (2012). A review of recent advances and current hypotheses on the pathogenesis of acute laminitis. *Equine Veterinary Journal*, *44*(6), 752-761. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00664.x>.
- Kearns, C. F., McKeever, K. H., Roegner, V., Brady, S. M., & Malinowski, K. (2006). Adiponectin and leptin are related to fat mass in horses. *Veterinary Journal*, *172*(3), 460-465. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.05.002>.
- Kenney R. M. (1978). Cyclic and pathological changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on embryonic death. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *172*, 241-262.
- Kozdrowski, R., Sikora, M., Buczkowska, J., Nowak, M., Raś, A., & Dziecioł, M. (2015). Effects of cycle stage and sampling procedure on interpretation of endometrial cytology in mares. *Animal Reproduction Science*, *154*, 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.01.009>.
- Kubiak, J. R., Evans, J. W., Potter, G. D., Harms, P. G., & Jenkins, W. L. (1991). Milk yield and composition in the multiparous mare fed to obesity. *Journal of Equine Veterinary Science*, *11*(3), 158-162.
- LeBlanc, M. M., Magsig, J., & Stromberg, A. J. (2007). Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*, *68*(3), 403-412.
- LeBlanc, M. M., & McKinnon, A. O. (2011). Breeding the problem mare. *Equine Reproduction*, *2*, 2620-2642.
- LeBlanc, M.M., Neuwirth, L., Asbury, A.C., Tran, T., Mauragis, D., & Klapstein, E. (1994). Scintigraphic measurement of uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometritis. *Equine Veterinary Journal*, *26*, 109-113.

- LeBlanc, M. M., Neuwirth, L., Jones, L., Cage, C., & Mauragis, D. (1998). Differences in uterine position of reproductively normal mares and those with delayed uterine clearance detected by scintigraphy. *Theriogenology*, *50*(1), 49-54. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(98\)00112-5](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(98)00112-5).
- Lecton, J., Wagner, B., Byron, M., Miller, A., Rollins, A., Chenier, T., Cheong, S.H., & Diel de Amorim, M. (2024). Inflammatory markers for differentiation of endometritis in the mare. *Equine Veterinary Journal*, *56*(4), 678-687.
- Lewis, S. L., Holl, H. M., Streeter, C., Posbergh, C., Schanbacher, B. J., Place, N. J., Mallicote, M. F., Long, M. T., & Brooks, S. A. (2017). Genomewide association study reveals a risk locus for equine metabolic syndrome in the Arabian horse. *Journal of Animal Science*, *95*(3), 1071-1079. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.1221>.
- Martín, M. R. (2020). Tratamientos hormonales para el manejo reproductivo en yeguas. *Equinus: Medicina y cirugía equina*, (56), 8-15.
- Martin-Gimenez, T., Aguirre-Pascasio, C. N., & De Blas, I. (2018). Beyond scoring systems: usefulness of morphometry considering demographic variables, to evaluate neck and overall obesity in Andalusian horses. *Animal*, *12*(3), 597-605.
- McCue, M. E., Geor, R. J., & Schultz, N. (2015). Equine metabolic syndrome: A complex disease influenced by genetics and the environment. *Journal of Equine Veterinary Science*, *35*(5), 367-375. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.03.004>.
- McGowan, C. M. (2018). The intersection of PPID and laminitis. *AAEP Proceedings*, *64*, 183-187.
- Meier, A. D., de Laat, M. A., Reiche, D. B., & Sillence, M. N. (2020). Glucagonlike peptide-1, insulin-like growth factor-1, and adiponectin in insulin dysregulated ponies: effects of feeding a high nonstructural carbohydrate diet and association with prospective laminitis. *Domestic Animal Endocrinology*, *71*, 106397. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2019.106397>.
- Meikle, A., de Brun, V., Carriquiry, M., Soca, P., Sosa, C., Adrien, M. d. L., Chilibroste, P., & Abecia, J. A. (2018, September 16-20). *Influences of nutrition and metabolism on reproduction of the female ruminant* [Ponencia]. 10th International Ruminant Reproduction Symposium Foz do Iguaçu, Brazil.
- Morgan, R. A., McGowan, T. W., & McGowan, C. M. (2014). Prevalence and risk factors for hyperinsulinaemia in ponies in Queensland, Australia. *Australian Veterinary Journal*, *92*(4), 101-106. <https://doi.org/10.1111/avj.12159>
- Nielsen, J. M. (2005). Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*, *64*(3), 510-518.
- Pardié, M., Kalpokas, I., Freccero, F., Castagnetti, C., & Meikle, A. (2024). Obesity and gestation in Criollo mares: endocrine and metabolic profiles. *Domestic Animal Endocrinology*, *89*, 106857.

- Pasolini, M. P., Prete, C. D., Fabri, S., & Auletta, L. (2016). Endometritis and infertility in mares—The challenge in the equine breeding industry—A review. En *Genital Infections and Infertility* (pp. 285-328). IntechOpen.
- Paz, C. F. R., Paganela, J. C., dos Santos, C. A., Nogueira, C. E. W., & Faleiros, R. R. (2013). Relationship between obesity, insulin and placement of plasma in equine distal phalanx of breed creole. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, *65*, 1699-1705.
- Paz-Filho, G., Mastronardi, C., Franco, C. B., Wang, K. B., Wong, M. L., & Licinio, J. (2012). Leptin: molecular mechanisms, systemic pro-inflammatory effects, and clinical implications. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, *56*(9), 597-607.
- Pennington, P. M., Splan, R. K., Jacobs, R. D., Chen, Y., Singh, R. P., Li, Y., Gucek, M., Wagner, A.L., Freeman, E.W., & Pukazhenth, B. S. (2020). Influence of metabolic status and diet on early pregnant equine histotroph proteome: preliminary findings. *Journal of Equine Veterinary Science*, *88*, 102938.
- Potter, S. J., Bamford, N. J., Baskerville, C. L., Harris, P. A., & Bailey, S. R. (2021). Comparison of feed digestibility between ponies, standardbreds and andalusian horses fed three different diets. *Veterinary Sciences*, *9*(1), 15. <https://doi.org/10.3390/vetsci9010015>.
- Reghini, M.F.S., Ramires Neto, C., Segabinazzi, L.G., Castro Chaves, M.M.B., Dell'Aqua Cd, P.F., Bussiere, M.C.C., Dell'Aqua, Jr J.A., Papa, F.O., & Alvarenga, M.A. (2016). Inflammatory response in chronic degenerative endometritis mares treated with platelet-rich plasma. *Theriogenology*, *86*(2), 516-522. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.01.029>.
- Rellas, T., Ristiniemi, M., & Katila, T. (1998). Influence of hormone replacement therapy and bacterial inoculation on proteins and enzymes in uterine lavage fluid of ovariectomized mares. *Reproduction in Domestic Animals*, *33*(1), 11-19.
- Rendle, D., McGregor Argo, C., Bowen, M., Carslake, H., German, A., Harris, P., Knowles, E., Menzies-Gow, N., & Morgan, R. (2018). Equine obesity: current perspectives. *UK-Vet Equine*, *2*(Suppl. 5), 1-19.
- Ricketts, S. W., & Alonso, S. (1991). The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease. *Equine Veterinary Journal*, *23*(3), 189-192. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1991.tb02752.x>.
- Riddle, W. T., LeBlanc, M. M., & Stromberg, A. J. (2007). Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology*, *68*(3), 395-402. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.05.050>.
- Robles, M., Nouveau, E., Gautier, C., Mendoza, L., Dubois, C., Dahirel, M., & Chavatte-Palmer, P. (2018). Maternal obesity increases insulin resistance, low-grade inflammation and osteochondrosis lesions in foals and yearlings until 18 months of age. *PLoS one*, *13*(1), e0190309.

- Salinas, C., Espinosa, G., Morales, N., Henríquez, C., Morán, G., Gajardo, G., & Uberti, B. (2020). Assessment of peripheral blood neutrophil respiratory burst, phagocytosis and apoptosis in obese non-insulin dysregulated horses. *Research in Veterinary Science*, 132, 127-132.
- Samper, J. C. (2007, noviembre). *How to Interpret Endometrial Edema in Brood Mares?* [Ponencia]. Proceedings of the 53rd annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Leipzig.
- Samper, J. C. (2010). A review of a practitioner's perspective on endometrial edema. *Pferdeheilkunde*, 26, 14-18. <https://doi.org/10.21836/PEM20100103>.
- Scarlet, D., Malama, E., Fischer, S., Knutti, B., & Bollwein, H. (2023). Relationship between clinical uterine findings, therapy, and fertility in the Mare. *Veterinary Sciences*, 10(4), 259.
- Sessions-Bresnahan, D. R., Heuberger, A. L., & Carnevale, E. M. (2018). Obesity in mares promotes uterine inflammation and alters embryo lipid fingerprints and homeostasis. *Biology of Reproduction*, 99(4), 761-772. <https://doi.org/10.1093/biolre/i0y107>.
- Sessions, D. R., Reedy, S. E., Vick, M. M., Murphy, B. A., & Fitzgerald, B. P. (2004). Development of a model for inducing transient insulin resistance in the mare: preliminary implications regarding the estrous cycle. *Journal of Animal Science*, 82(8), 2321-2328.
- Sikora, M., Król, J., Nowak, M., Stefaniak, T., Aubertsson, G., & Kozdrowski, R. (2015). The usefulness of uterine lavage and acute phase protein levels as a diagnostic tool for subclinical endometritis in Icelandic mares. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 58, 1-10.
- Smieszek, A., Marcinkowska, K., Pielok, A., Sikora, M., Valihrach, L., Carnevale, E., & Marycz, K. (2022). Obesity affects the proliferative potential of equine endometrial progenitor cells and modulates their molecular phenotype associated with mitochondrial metabolism. *Cells*, 11(9), 1437.
- Suagee, J. K., Corl, B. A., & Geor, R. J. (2012). A Potential Role for Pro-Inflammatory Cytokines in the Development of Insulin Resistance in Horses. *Animals*, 2(2), 243-260. <https://doi.org/10.3390/ani2020243>.
- Tadros, E. M., Frank, N., & Donnell, R. L. (2013). Effects of equine metabolic syndrome on inflammatory responses of horses to intravenous lipopolysaccharide infusion. *American Journal of Veterinary Research*, 74(7), 1010-1019.
- Thatcher, C. D., Pleasant, R. S., Geor, R. J., Elvinger, F., Negrin, K. A., Franklin, J., Gay, L., & Werre, S. R. (2008). Prevalence of obesity in mature horses: an equine body condition study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 92(2), 222-222.

- Tirpan, M. B., Olğaç, K. T., Şahin, M. O., & Kaya, U. (2024). Pregnancy rates according to follicle diameter and uterus edema in different age groups in two consecutive ovulations in Arabian mares. *Veterinarski Arhiv*, *94*(3), 173-182.
- Troedsson, M. H. (1999). Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology*, *52*(3), 461-471. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00143-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00143-0).
- Troedsson, M.H., Desvougges, A., Macpherson, M.L., & Pozor, M.P. (2008). Persistent breeding induced endometritis. *Pferdeheilkunde*, *24*, 56-60.
- Troedsson, M. H., Liu, I. K., Ing, M., Pascoe, J., & Thurmond, M. (1993). Multiple site electromyography recordings of uterine activity following an intrauterine bacterial challenge in mares susceptible and resistant to chronic uterine infection. *Journal of Reproduction and Fertility*, *99*(2), 307-313. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0990307>.
- Van Camp, S. D. (1988). Endometrial biopsy of the mare: a review and update. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, *4*(2), 229-245.
- Van Weyenberg, S., Buyse, J., Kalmar, I. D., Swennen, Q., & Janssens, G. P. (2013). Voluntary feed intake and leptin sensitivity in ad libitum fed obese ponies following a period of restricted feeding: a pilot study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* (Berl), *97*(4), 624-631. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01300.x>.
- Vick, M. M., Adams, A. A., Murphy, B. A., Sessions, D. R., Horohov, D. W., Cook, R. F., Shelton, B.J., & Fitzgerald, B. P. (2007). Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. *Journal of Animal Science*, *85*(5), 1144-1155.
- Vick, M. M., Sessions, D. R., Murphy, B. A., Kennedy, E. L., Reedy, S. E., & Fitzgerald, B. P. (2006). Obesity is associated with altered metabolic and reproductive activity in the mare: effects of metformin on insulin sensitivity and reproductive cyclicity. *Reproduction, Fertility and Development*, *18*(6), 609-617.
- Walter, J., Neuberg, K. P., Failing, K., & Wehrend, A. (2012). Cytological diagnosis of endometritis in the mare: investigations of sampling techniques and relation to bacteriological results. *Animal Reproduction Science*, *132*(3-4), 178-186.
- Woodward, E. M., Christoffersen, M., Campos, J., Betancourt, A., Horohov, D., Scoggin, K. E., Squires, E. L., & Troedsson, M. H. T. (2013). Endometrial inflammatory markers of the early immune response in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis. *Reproduction (Cambridge, England)*, *145*(3), 289-296. <https://doiorg.proxy.timbo.org.uy/10.1530/rep-12-0452>.
- Wojtysiak, K., Ryszka, W., Stefaniak T., Król J., & Kozdrowski R. (2020). Changes in the secretion of anti-inflammatory cytokines and acute-phase proteins in the uterus after artificial insemination in the mare. *Animals*, *10*(2438), 2438. <https://doiorg.proxy.timbo.org.uy/10.3390/ani10122438>.