



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Medicina Veterinaria

Efecto del plasma rico en plaquetas (PRP) en yeguas con endometritis

Trabajo de Integración Curricular previo a la
obtención del título de Médica Veterinaria

AUTOR:

Ana Paola Andino Viteri

DIRECTOR:

DVM. Elena Carolina Serrano Recalde MSc, PhD

Loja - Ecuador

2023

Certificación

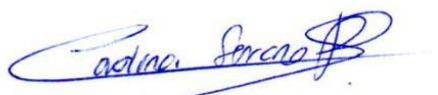
Loja, 18 de Mayo del 2023

DVM. Elena Carolina Serrano Recalde MSc, PhD

DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Integración Curricular titulado: **Efecto del plasma rico en plaquetas (PRP) en yeguas con endometritis**, previo a la obtención del título de **Médico Veterinario**, de la autoría de la estudiante **Ana Paola Andino Viteri**, con cédula de identidad Nro. **1105733685**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.



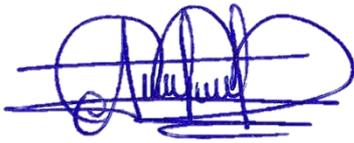
DVM. Elena Carolina Serrano Recalde MSc, PhD

DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Autoría

Yo, **Ana Paola Andino Viteri**, declaro ser autora del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:



Cédula de identidad: 110573368-5

Fecha: 23/05/2023

Correo electrónico: ana.andino@unl.edu.ec

Teléfono: 0998619948

Carta de autorización por parte de la autora, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, de Trabajo de Integración Curricular

Yo, **Ana Paola Andino Viteri**, declaro ser autora del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Efecto del plasma rico en plaquetas (PRP) en yeguas con endometritis**, como requisito para optar por el título de **Médico Veterinario**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los veintitres días del mes de mayo de dos mil veintitres.



Firma:

Autora: Ana Paola Andino Viteri

Cédula: 1105733685

Dirección: Loja, Bolívar Bailón y Carlos Román.

Correo electrónico: ana.andino@unl.edu.ec

Teléfono: 0998619948

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Directora del Trabajo de Integración Curricular

DVM. Elena Carolina Serrano Recalde MSc, PhD

Dedicatoria

Se la dedico con todo mi corazón y orgullo a mi madre **Rosa Mercedes**. La mujer de quien siempre obtuve apoyo, que nunca frenó mis alas para llegar lejos y quien jamás ha dudado de mi potencial. Madre, aun sigo siendo aquella niña de primer grado que te esperaba en la puerta de la escuela Marianitas para ir caminando hasta la casa de la abuelita, hoy en día aun te sigo esperando. Jamás voy a olvidar el esfuerzo que te costó sacarnos adelante, las lágrimas que vi caer sobre tus mejillas cuando la situación en el hogar fue muy difícil, los detalles que me has brindado en la abundancia y en la pobreza. **Tú** eres el motivo para siempre regresar a casa. Le pido a Dios vida, para un día llegar a ser como tú y devolverte tan solo un poco de todo lo que tú me has dado. Este trabajo resumido en estas breves hojas, es uno de mis mayores orgullos, donde plasmó el esfuerzo que me costó llegar hasta aquí y lo pongo en tus manos, porque tú te mereces las cosas hermosas que la gente te pueda ofrecer. **Lo logramos mamita**

A ti, mi hermano querido **Pablo Fernando**, por haberte convertido en el padre que muchas veces nos hizo falta en casa, por tu cariño, por nunca habernos abandonado y seguirnos teniendo en un lugar especial en tu vida. Para ti y tu hermosa familia que Dios te permitió formar y que nos regala alegrías siempre que llegas a casa. **Los amo**

A ti, **Enrique Sebastián** por cuidarme aun en el acecho de la enfermedad, por el amor que me regalas cuando llego a casa. Aunque la vida últimamente no ha sido fácil, siempre fuiste un gran joven que se merecía el mundo por tu inmenso corazón, te dedico mi amor, mi preocupación por tu bienestar y mi deseo de que encuentres el propósito que Dios tiene para tu vida. **Te amo**

A ti, **Bolívar Andrés**. Tu amor me acompañó durante toda mi niñez y parte de mi adolescencia, hoy que ya no puedes estar junto a mí, te dedico este trabajo y el orgullo de que “tu reina” logró convertirse en una profesional. Se que este momento sería muy emotivo para ti y que serías tan feliz como yo. **Te extrañamos**

A ustedes **Nena y Perla** por haber sido la alegría de mis mañanas y el abrigo de mis noches. Por acompañarme cuando estudiaba hasta la madrugada, por prestarme su anatomía para aprender y por estar siempre dispuestas a acompañarme incondicionalmente en el camino.

A ti, **José Alexander** por tu amor incondicional en los momentos difíciles, por haber creído en mí y en mi potencial, por nunca haberme soltado la mano cuando más necesite de alguien.

A ti, **Katiuska Lizbeth** por haberme alentado cuando dudé de mí, por haber formado parte del inicio de este camino y por haber sido la amiga fiel que en los momentos de angustia nunca me falló. **Gracias**

Ana Paola Andino Viteri

Agradecimiento

Agradezco a **Dios**, por regalarme este momento y todo lo hermoso que reposa a mi alrededor. Gracias a ti **Padre Amado** por sostenerme y amarme desde el vientre de mi madre, gracias por permitirme soñar y darme tu bendición cada día de mi vida. **Te amo**

Agradezco a mi padre, **Marco Andino** y a su esposa **Verónica Carvajal**, por haberme brindado su apoyo a pesar de la distancia, por alentarme a terminar esta carrera, por haberme dado un lugar en su hogar.

Agradezco a mi amiga y compañera, **Andrea Marisol Cumbicus**, por haber sido mi compañera fiel en el transcurso de esta carrera, por su inmenso cariño, por todos los sueños compartidos, por su tiempo y paciencia para compartir y aprender, nada de esto hubiera sido igual, si tu no hubieras sido parte de la historia, colega mía te deseo muchos éxitos y felicidad.

Agradezco a la mejor directora de tesis, **Dra. Carolina Serrano Recalde**, docente de la carrera de Medicina Veterinaria. Hoy más que nunca tengo la fuerte convicción, que ser un maestro va mucho más allá de enseñar. Las decisiones acertadas que tomamos en la vida se deben celebrar con alegría y esta es una de ellas. Gracias a mi directora, que sin pedir nada a cambio nos regaló su tiempo, su dinero, sus anhelos, su cariño, su esfuerzo y sus grandes conocimientos. Solamente puedo decir ¡Gracias!. A usted mi mayor respeto y admiración para toda la vida, esta experiencia es sin duda de mis mayores tesoros y orgullos.

Agradezco al **Cabo I Ángel Aguilera**, por haber formado parte de este gran equipo y haberme enseñado disciplina y pasión por los animales, por protegernos durante el tiempo que permanecemos en campo, por haberse convertido en un amigo y sobre todo por ser un gran ser humano. Solo le auguro éxitos y que pronto logre encontrar un lugar donde sea muy feliz

De igual manera agradezco al **Grupo de Caballería Mecanizada N°18 “Cazadores de los Ríos”**, por haberme abierto sus puertas para realizar mi trabajo de campo, donde logré terminar parte importante de mi carrera y a todas aquellas personas que conforman dicho establecimiento con las que solo puede expresar mi agradecimiento y el mayor de los éxitos.

Finalmente, agradezco a mis amigas **María, Cristina y Millie** por haberme alentado a no desfallecer. Gracias por su apoyo, son un hermoso tesoro en mi corazón. Dios bendiga sus vidas infinitamente. **Gracias**

Ana Paola Andino Viteri

Índice de contenidos

Portada	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenidos	vii
Índice de Tablas	ix
Índice de Figuras	x
Índice de Anexos.....	xi
1. Título	1
2. Resumen	2
2.1. Abstract.....	3
3. Introducción	4
4. Marco Teórico	5
4.1. Anatomía y Fisiología Reproductiva de la Yegua.....	5
4.1.1. <i>Anatomía</i>	5
4.1.2. <i>Fisiología</i>	5
4.2. Mecanismos de Defensa Uterinos.....	9
4.2.1. <i>Prostaglandinas</i>	10
4.2.2. <i>Ciclooxigenasas</i>	10
4.3. Inflamación del Útero	11
4.3.1. <i>Endometritis no Infecciosa</i>	12
4.3.2. <i>Endometritis Infecciosa</i>	12
4.3.3. <i>Diagnóstico de Endometritis</i>	13
4.4. Tratamientos para Reducir la Inflamación del Útero.....	14
4.4.1. <i>Antiinflamatorios Esteroides</i>	15
4.4.2. <i>Antiinflamatorios no Esteroides (AINEs)</i>	15
4.4.3. <i>Agentes Ecbólicos</i>	15
4.4.4. <i>Lavado Uterino</i>	15
4.4.5. <i>Plasma Seminal</i>	16

4.4.6. Células Madre	16
4.4.7. Extracto de Pared Celular de Mycobacterium.....	16
4.4.8. Plasma Rico en Plaquetas	16
5. Material y Métodos	18
5.1. Área de Estudio.....	18
5.2. Procedimiento	18
5.2.1. Enfoque metodológico.....	18
5.2.2. Procesamiento y Análisis de la Información.....	18
5.2.3. Diseño de la investigación.....	19
5.2.4. Tamaño de la muestra y tipo de muestreo.....	19
5.2.5. Técnicas.....	19
6. Resultados	23
6.1. Edema endometrial	23
6.2. Acumulación de líquido intrauterino	23
6.3. Citología endometrial.....	24
7. Discusión	26
8. Conclusión	29
9. Recomendaciones	30
10. Bibliografía	31
11. Anexos	42

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación del edema en grados según su magnitud.	8
Tabla 2. Clasificación citológica.....	20

Índice de figuras

Figura 1.	Mapa de Caballería Cazadores de los Ríos.	18
Figura 2.	Mapa del Centro de Biotecnología UNL.....	18
Figura 3.	Citología uterina de yeguas	21
Figura 4.	Esquema experimental simplificado.	22
Figura 5.	Medias \pm desviación estándar del grado de edema endometrial de yeguas	23
Figura 6.	Medias \pm desviación estándar del tamaño de líquido intrauterino de yeguas	24
Figura 7.	Media del porcentaje de células polimorfonucleares del útero de yeguas	25

Índice de anexos

Anexo 1.	Palpación rectal para examen ginecológico equino.	42
Anexo 2.	Ultrasonografía reproductiva de yegua, edema grado 2-3.	42
Anexo 3.	Ultrasonografía rectal de yegua en estro; *folículo dominante.	42
Anexo 4.	Ultrasonografía rectal de yegua; *líquido intrauterino.	42
Anexo 5.	Evaluación microscópica de semen de caballo.	43
Anexo 6.	Inseminación artificial en yegua.	43
Anexo 7.	Toma de muestras citológicas intrauterinas.	43
Anexo 8.	Aplicación intrauterina de Ringer Lactato.	43
Anexo 9.	Preparación de plasma rico en plaquetas, dentro de cámara de flujo laminar.	44
Anexo 10.	Centrifugación de plasma rico en plaquetas.	44
Anexo 11.	Aplicación intrauterina de plasma rico en plaquetas.	44
Anexo 12.	Aparato de citología intrauterina de yegua.	44
Anexo 13.	Consideraciones éticas	45
Anexo 14.	Certificado de traducción de resumen del Trabajo de Integración Curricular	45

1. Título

Efecto del plasma rico en plaquetas (PRP) en yeguas con endometritis

2. Resumen

La endometritis es una de las principales causas de infertilidad en yeguas, caracterizada por una respuesta inflamatoria en el útero, que acumula líquido intrauterino (LIU) y atrae células polimorfonucleares (PMN). El objetivo de este estudio fue determinar si el grado de edema uterino, la presencia y tamaño de LIU, y el porcentaje de células PMN disminuyen después de la aplicación intrauterina de plasma rico en plaquetas (PRP) en yeguas con endometritis. Fueron utilizadas yeguas mestizas sanas ($n = 9$) con edades entre 6 a 12 años, condición corporal óptima, con dos ciclos asignados aleatoriamente en un diseño cruzado para recibir infusiones intrauterinas de solución de Ringer Lactato (LRS) o PRP autólogo ($37.01 \pm 12.13 \times 10^9$ plaquetas totales) 4h después de la inseminación artificial (IA) con semen fresco de baja calidad espermática del mismo semental. Todos los animales pasaron por todos los tratamientos. Se analizó el grado de edema y la presencia de LIU mediante ultrasonografía, y se determinó el porcentaje de PMN mediante citología endometrial, antes de la inseminación y 24h después de la aplicación del tratamiento. El análisis estadístico se realizó mediante un modelo mixto (SAS, 2023). El PRP no influyó ($p > 0.05$) sobre el grado de edema uterino, ni el tamaño de LIU, sin embargo, redujo ($p \leq 0.001$) efectivamente el porcentaje de PMN en el útero en comparación con LRS. El grado de edema endometrial fue mayor ($p \leq 0.001$) antes de la IA, por otro lado, el tamaño del LIU fue menor ($p \leq 0.049$) y se encontraron menos ($p \leq 0.001$) células inflamatorias antes de la IA que a las 24h después del tratamiento. El plasma rico en plaquetas mitiga la respuesta inflamatoria en yeguas con endometritis post-inseminación.

Palabras clave: Inflamación, útero, líquido intrauterino, polimorfonucleares, inseminación.

2.1. Abstract

Endometritis is one of the leading causes of infertility in mares, characterized by an inflammatory response in the uterus, which accumulates intrauterine fluid (LIU) and attracts polymorphonuclear cells (PMN). The aim of this study was to determine whether uterine edema, presence and size of LIU and the percentage of PMN cells decrease after intrauterine application of platelet-rich plasma (PRP) in mares with endometritis. Healthy crossbred mares (n = 9) aged 6 to 12 years, with optimal body condition, were used. Two estrous cycles were randomly assigned in a crossover design to receive intrauterine infusions of Lactate Ringer's solution (LRS) or autologous PRP ($37.01 \pm 12.13 \times 10^9$ total platelets) 4h after artificial insemination (AI) with fresh semen of low sperm quality from the same stallion. All animals went through all treatments. Uterine edema and the presence of LIU were analyzed by ultrasonography, and we determined the percentage of PMN cells by endometrial cytology before insemination and 24h after treatment. Statistical analysis was performed using a mixed model (SAS, 2023). PRP did not influence ($p > 0.05$) the grade of uterine edema or the size of LIU. However, it effectively reduced ($p \leq 0.001$) the percentage of PMN cells in the uterus compared to LRS. The grade of endometrial edema was significantly higher ($p \leq 0.001$) before AI. On the other hand, the size of LIU was smaller ($p \leq 0.049$), and fewer ($p \leq 0.001$) inflammatory cells were found before AI than 24h after treatment. Platelet-rich plasma mitigates the inflammatory response in mares with post-breeding endometritis.

Keywords: inflammation, uterus, intrauterine fluid, polymorphonuclear cells, insemination

3. Introducción

La endometritis es una de las enfermedades más frecuentes en yeguas (Traub *et al.*, 1991). Su presencia causa una baja eficiencia reproductiva (Troedsson, 1999; Liu & Troedsson, 2008). El semen del caballo tiende a generar una respuesta inflamatoria aguda (Katila, 2001), por lo que treinta minutos después de la cubrición, la yegua genera una reacción fisiológica normal con la finalidad de eliminar plasma seminal, exceso de esperma y microorganismos (Troedsson *et al.*, 1998). Por lo contrario, las yeguas que mantienen la endometritis generan una respuesta inflamatoria uterina prolongada (Troedsson, 1997), que se caracteriza por la acumulación de células polimorfonucleares (PMN) y acumulación de líquido intrauterino, perjudicando a la supervivencia embrionaria (Bucca *et al.*, 2008) y al establecimiento de la preñez (Troedsson, 1997).

Existen una serie de tratamientos para disminuir o modular la respuesta inmunitaria en la inflamación uterina post-cubrición (Leblanc & Causey, 2009). Entre ellos se encuentra el uso de agentes ecbólicos, el lavado uterino (LeBlanc & Causey, 2009), el plasma seminal (Fedorka *et al.*, 2017), las células madre (Morris *et al.*, 2020), los esteroides e inmunomodulares (Fumuso *et al.*, 2003; Papa, 2008), el plasma rico en plaquetas (Segabinazzi *et al.*, 2017), entre otros.

La infusión intrauterina de plasma rico en plaquetas (PRP), disminuye la respuesta inflamatoria post-cubrición (Reghini *et al.*, 2016; Pasch *et al.*, 2021). Es un hemoderivado rico en péptidos y proteínas de señalización (Muir *et al.*, 2019), que inhibe la migración de neutrófilos polimorfonucleares (PMN), suprime la expresión de citocinas proinflamatorias como IL-1 y TNF α y regula la inflamación intrauterina a través de la disminución de COX-2 expresión endometrial (Segabinazzi *et al.*, 2017).

Por lo tanto, los objetivos planteados en este estudio fueron: Determinar el efecto del plasma rico en plaquetas (PRP) en yeguas con endometritis, Identificar a través de citología endometrial el porcentaje de células inflamatorias en yeguas antes y después del tratamiento con PRP, e Identificar a través de ultrasonografía el grado de edema y líquido intrauterino en yeguas antes y después del tratamiento con PRP.

Como hipótesis planteada en este estudio tenemos: La infusión intrauterina de plasma rico en plaquetas disminuye la respuesta inflamatoria post cubrición.

4. Marco Teórico

4.1. Anatomía y Fisiología Reproductiva de la Yegua

4.1.1. Anatomía

El aparato reproductor de la yegua se divide en dos grupos. Intrínsecos aquellos que se encuentran sostenidas a través del ligamento ancho del útero, tales como ovarios, cuernos uterinos, útero, cérvix, vagina, vestíbulo y vulva). Extrínsecos, como la glándula pineal, retina, hipotálamo e hipófisis (Brinsko *et al.*, 2011).

Los ovarios son estructuras en forma de haba oval irregular de consistencia firme (Brinsko *et al.*, 2011), su función exócrina es liberar óvulos, y la endocrina producir hormonas (Hafez, 2002). Los cuernos uterinos o trompa uterina conforman el segmento inicial del tracto tubular reproductivo de la yegua. Se conforma de tres partes: el infundíbulo (parte cercana al ovario, en forma de embudo), la ampolla (parte media), y el istmo (parte estrecha que conecta la ampolla de la tuba uterina) (Youngquist & Threlfall, 2007).

El útero es un órgano muscular hueco que está formado por dos cuernos, un cuerpo en forma de T o Y, y un cérvix (Sisson & Grossman, 1982); compuesto por tres capas. La capa más interna (endometrio) es glandular y secretora, se encarga de regular la función luteal durante el ciclo estral y la preñez (Youngquist & Threlfall, 2007). La capa media (miometrio) es gruesa y es la responsable de la variación del tono muscular del útero. La capa más externa (perimetrio), formada por tejido conectivo (Sisson & Grossman, 1982; Brinsko *et al.*, 2011).

El cérvix es un órgano dinámico, con forma de semicono plano que se proyecta caudalmente hacia la vagina (Hafez, 2002). Cuenta con un alto número de células ciliadas y productoras de mucus, que permiten crear una barrera física para proteger el útero (Samper *et al.*, 2007; Brinsko *et al.*, 2011). La vagina es un órgano copulatorio tubular que se extiende horizontalmente, desde el orificio externo del cérvix hasta el pliegue transversal que recubre el orificio uretral externo (Brinsko *et al.*, 2011). La vagina continúa caudalmente con el vestíbulo, que es la parte terminal del tracto genital (Sisson & Grossman, 1982). Finalmente, la vulva es la abertura externa del tracto reproductivo femenino, está formada por dos labios que se encuentran en las comisuras dorsal y ventral, y que cuentan con una musculatura subyacente que funciona para cerrar la abertura vulvar (Dyce *et al.*, 2009).

4.1.2. Fisiología

Las yeguas se consideran poliéstricas estacionales de días largos, su temporada de

reproducción dura de abril a octubre en el hemisferio sur, aunque puede existir una variación significativa en las yeguas (Morel, 2020). Algunos aspectos pueden influir en la temporada de reproducción, tales como el fotoperiodo, la raza, la nutrición y la condición corporal (Skinner *et al.*, 2001).

El fotoperiodo (duración del periodo luz/día), ejerce un efecto mediante la producción de la melatonina producida por la glándula pineal en los periodos de oscuridad, la cual bloquea la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) a través del hipotálamo (Ginther, 1992); mientras que cuando se presenta un incremento en las horas luz al día se produce períodos cortos con altas concentraciones de melatonina, que incrementan la frecuencia de liberación de pulsos de gonadotropinas (Palmer *et al.*, 1982).

El inicio de la actividad reproductiva de la hembra equina empieza alrededor de los 14 meses (rango de 8 a 27 meses), y se caracteriza por la presentación del primer celo conductual, la primera ovulación determinada por los niveles elevados de progesterona y la presencia de un cuerpo lúteo (CL) (Brown *et al.*, 2010).

4.1.1.1. Ciclo Estral. El ciclo estral equino dura en promedio 21 días (rango 20-22 días), se divide en dos fases: estro y diestro (Andrade *et al.*, 2011). El estro es el periodo durante el cual la yegua es receptiva sexualmente, dura normalmente alrededor de 5 a 6 días (rango 4,5 a 8,9 días), el celo conductual es estimulado por la elevación de los niveles de estradiol que produce el folículo dominante en ausencia de la progesterona. La ovulación ocurre generalmente entre 24 a 48 horas antes del final del estro. El diestro conductual rechaza las insinuaciones sexuales y dura normalmente entre 15 a 16 días, que se caracteriza por la elevación de los niveles de progesterona producida por la presencia de uno o varios cuerpos lúteos (Neely *et al.*, 1989; Dascanio & McCue, 2021).

4.1.1.2. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónada. La actividad de las gónadas de la yegua está bajo el control del hipotálamo y de la adenohipófisis. El hipotálamo tiene núcleos, que secretan hormonas peptídicas que controlan la actividad de la hipófisis. La hipófisis se divide en adenohipófisis, pars intermedia y neurohipófisis. La adenohipófisis produce dos gonadotropinas importantes, la hormona folículo estimulante (FSH) y la

hormona luteinizante (LH), encargadas del desarrollo y ovulación de los folículos del ovario (Klein, 2020).

Los folículos producen inhibina y estradiol. La inhibina genera retroalimentación negativa sobre la adenohipófisis para detener la producción de FSH y el estradiol genera retroalimentación positiva sobre el hipotálamo para que la hembra ovule (Ginther *et al.*, 2008).

4.1.1.3. Fotoperiodo-Melatonina. El fotoperiodo influye en la secreción de melatonina a través de la vía neuroendocrina; la yegua capta el estímulo a través de la retina, y luego pasa al núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo, ganglio cervical superior (GCS) y glándula pineal (GP) (Cortés *et al.*, 2018). La melatonina es secretada a través de la glándula pineal en dos fases: fotofase (día) y escotofase (noche). A medida que aumenta la duración del día, se elimina la inhibición del eje, lo que permite producir GnRH, e impulsa la secreción de LH y, en menor medida de la FSH (Morel, 2020). Su función es actuar en el hipotálamo para regular la secreción de GNRH.

4.1.1.4. Fisiología del Edema Uterino. Cuando la yegua se encuentra bajo la influencia de altos niveles de estrógenos, se presenta el aumento del edema uterino, la apariencia de útero se asemeja a una rueda de carro o a una naranja partida por la mitad, hiperemia de labios vulvares y vagina, y la relajación de la vagina y cérvix. La aparición y desaparición del edema se relaciona con los niveles de estrógenos y progesterona; cuando la yegua se acerca a la ovulación y los estrógenos llegan al nivel máximo, el edema comienza a disminuir; su clasificación se visualiza en la Tabla 1 (Samper, 2009).

Tabla 1. Clasificación del edema en grados según su magnitud.

Grado	Características del grado de edema uterino
0	Homogeneidad en la pared del útero, presencia de un cuerpo lúteo y cérvix cerrado.
1	Presente en yegua entrante al celo, cérvix suave a palpación, pliegues uterinos difíciles de detectar y un folículo de 25-35 mm, dependiendo de la raza y tamaño de la yegua.
2	Cérvix con forma de esqueleto de pez, pliegues uterinos distinguibles y folículos mayores a 35 mm.
3	Pliegues uterinos gruesos fáciles de reconocer y folículos con un tamaño de 38 mm aproximadamente.
4	Aún se visualiza edema en forma de llanta, mayor incremento en el ancho de los pliegues uterinos, con bordes hiperecóicos y centro hipoeocógeno, se espera folículos > 40 mm.

4.1.1.5. Ovulación. El hipotálamo produce GnRH, la misma que estimula a la secreción de las gonadotropinas (FSH y LH) (Alexander & Irvine, 1987; Morel, 2020). Las gonadotropinas estimulan el desarrollo de los folículos hasta cierta etapa; la FSH hasta la desviación y la LH hasta el nivel preovulatorio; los folículos producen estradiol que genera retroalimentación positiva sobre el hipotálamo para estimular la liberación de las gonadotropinas, e inhibina que genera retroalimentación negativa sobre la adenohipófisis para reducir la producción de FSH. Cuando las yeguas no han quedado preñadas, han tenido más horas luz, las ovulaciones se repiten cada 21 días (Ginther *et al.*, 2008; Klein, 2020).

La ovulación consiste en la desintegración de la pared folicular para liberar el ovocito y el fluido folicular. El ovocito se dirige hacia el oviducto y el líquido folicular se sitúa en la cavidad abdominal (Bergfelt *et al.*, 1991). Luego de la ovulación, se desarrolla un cuerpo lúteo que produce progesterona (P4) y que ejerce retroalimentación negativa sobre el hipotálamo inhibiendo la liberación de las gonadotropinas. La neurohipófisis produce oxitocina y estimula a que el endometrio produzca prostaglandina (PFG2- α) que se encarga de destruir el cuerpo lúteo y, por lo tanto, disminuir los niveles de P4, hasta que la yegua conciba otro ciclo (Ginther *et al.*, 2008).

El crecimiento folicular tiene por objetivo establecer un

ambiente propicio para la maduración y preparación del ovocito en el momento de la fertilización. Este proceso se realiza a través de oleadas ovulatorias y anovulatorias. Las ondas ovulatorias inician su desarrollo en la parte media del intervalo inter ovulatorio y culmina con la ovulación; y la oleada anovulatoria llega a contar con folículos que miden entre 22 a 23 mm de diámetro y luego se atresian (Ginther *et al.*, 2008).

La producción de FSH continua, permitiendo que los folículos aumenten su tamaño de forma diaria (2.8 a 3 mm/día), sin tener que influenciar uno en el otro para el crecimiento de los demás. Sin embargo, solo uno o dos lograrán continuar con su crecimiento y participar en las siguientes fases. Posteriormente los niveles de FSH disminuyen, bajando su capacidad de promover el desarrollo de todos los folículos, a excepción del folículo dominante luego produce estradiol para mantener su crecimiento (Checura *et al.*, 2009).

El incremento de la síntesis de estradiol por parte del folículo dominante permite que se desarrollen los receptores de LH de las células de la granulosa, lo que le permite continuar creciendo y convertirse en un folículo dominante, mientras que los demás folículos sufren atresia. La yegua ovula entre 24 a 48 horas antes del final del estro, con una variación en el tamaño folicular de 35 a 55 mm y con un folículo en forma de pera (Kimura *et al.*, 2005; Morel, 2020).

4.2. Mecanismos de Defensa Uterinos

El aparato reproductor femenino cuenta con barreras físicas y químicas, defensas celulares y humorales que previenen la entrada de agentes infecciosos provenientes del medio externo (Wira *et al.*, 2010; Hansen, 2016). Sin embargo, en ocasiones los mecanismos de defensa no son suficientes para prevenir la colonización de microbios, y las infecciones resultantes pueden causar infertilidad o esterilidad de forma temporal o permanente, o incluso poner en riesgo la vida de la hembra (Hansen, 2016).

La respuesta inmune innata es la responsable de activar a los receptores del reconocimiento de patógenos (PRR) durante la infección, inflamación y daño tisular (Kawai & Akira, 2010). El endometrio cuenta con células provenientes del sistema inmunológico que

presentan cambios temporales y espaciales durante el ciclo estral, influidos por los niveles de esteroides sexuales (Hunt *et al.*, 1998; Wira *et al.*, 2010). Las células epiteliales, del estroma e inmunes del útero, funcionan como intermediarias para que hormonas como la progesterona y estrógenos produzcan prostaglandinas y citoquinas que influyen sobre la migración de macrófagos, linfocitos B y T, afectando la expresión de factores quimiotácticos y moléculas de adhesión (Herath *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2010; Wira *et al.*, 2010; Cronin *et al.*, 2012; Marth *et al.*, 2015).

En yeguas, el semen se deposita en la luz uterina, independiente del método de servicio. Una vez superadas las barreras físicas, el esperma, las proteínas del plasma seminal, las bacterias en el semen y el pene del semental toma contacto con el endometrio y se produce la respuesta inflamatoria que libera citoquinas pro-inflamatorias IL 1 β , TNF- α , IL-6, quimioquina IL-8 y prostaglandinas (Bucca *et al.*, 2008; Christoffersen *et al.*, 2012; Woodward *et al.*, 2013). La activación de los polimorfonucleares (PMN) provoca la liberación de PGF-2 α que genera una segunda contracción del miometrio facilitando la limpieza del útero (Troedsson *et al.*, 1995).

El endometrio de la yegua está poblado por linfocitos T, y células del complemento CD4+ y CD8+ que predominan en el estrato compacto del útero (Waltson & Thomson, 1996). En 1983, Williamson y colaboradores, aislaron inmunoglobulinas IgA, IgG e IgM de secreciones uterinas; por lo cual se señala que la actividad fagocitaria y bactericida de los PMN depende del complemento (C3) y de las IgG (Watson *et al.*, 1987b).

4.2.1. Prostaglandinas

Las prostaglandinas son lípidos insaturados, formados por un anillo con oxígeno y dos cadenas alifáticas (Martínez & Rivas, 2005). Actúan como mediadores químicos durante el proceso de inflamación, produciendo vasodilatación y activación de leucocitos (Tizard, 2009). En la membrana celular se inicia su formación debido a que el ácido araquidónico, fosfolipídico luego se convierte en prostaglandina (Vane *et al.*, 1998). Las prostaglandinas se clasifican dependiendo sus características estructurales y su precursor específico, se divide en tres series biológicas (1, 2 y 3), siendo la serie 2 la más importante al actuar como mensajero autocrino, paracrino y endocrino (Martínez & Rivas, 2005).

4.2.2. Ciclooxygenasas

Las ciclooxygenasas son proteínas enzimáticas que se ensamblan y transportan en el retículo endoplasmático, donde posteriormente se insertan en la membrana celular y forman

complejos funcionales llamados homodímeros (Vane *et al.*, 1998). Estas enzimas presentan dos isoformas (1 y 2) (González *et al.*, 2002). La ciclooxigenasa 1 (COX-1) es una enzima constitutiva que mantiene el funcionamiento normal del riñón y la integridad de la mucosa gástrica (Vane *et al.*, 1998). La ciclooxigenasa 2 (COX-2) es una enzima inducible, que es capaz de incrementar sus niveles frente a estímulos fisiológicos, inflamatorios o farmacológicos (González *et al.*, 2002), a través de la utilización de inductores, como las interleuquinas, el factor de crecimiento de fibroblastos B, el factor de crecimiento de transformación beta, el factor de necrosis tumoral alfa y los lipopolisacáridos (Delgado *et al.*, 2001).

4.3. Inflamación del Útero

La endometritis se define como la respuesta inmunológica normal tras la introducción de semen en el tracto reproductivo de la yegua durante la cobertura (LeBlanc, 2010; Troedsson & Woodward, 2016; Canisso *et al.*, 2020). En yeguas sanas y fértiles, la inflamación fisiológica tras la cobertura se resuelve dentro de las primeras 48 horas, gracias a la eliminación de fluido uterino, de semen y de bacterias. Sin embargo, si esta inflamación no se logra resolver luego de 48 horas, se considera como endometritis persistente post-cobertura (PBIE) (Canisso *et al.*, 2020). Para lograr diagnosticar una posible PBIE se debe detectar líquido uterino mayor a 2 cm a través de ecografía, durante el estro (Brinsko *et al.*, 2003) o 36 horas posteriores al apareamiento (LeBlanc, 2010).

Existen tres vías de respuesta para solucionar la inflamación uterina. Primero, la vía mecánica que consiste en la generación de contracciones miométriales para evacuar fácilmente los desechos inflamatorios. Segundo, la respuesta inmune innata, que elimina el exceso de espermatozoides y bacterias, siendo esta la más eficiente. Tercero, la respuesta inmunológica antígeno-anticuerpo, se considera mínima para resolver la inflamación (Pycocock & Allen, 1990).

Durante la cobertura el cuello uterino es estimulado, como consecuencia la vagina libera oxitocina que genera contracciones del miometrio durante 6 a 12 horas, para expulsar los fluidos desde el lumen uterino (Risco *et al.*, 2009) hacia el exterior (Troedsson, 1997). Luego de la ovulación y del cierre del cuello uterino, los restos de partículas uterinas, el edema y las células inflamatorias se drenan a través de los vasos linfáticos dentro del endometrio (LeBlanc *et al.*, 1995). Sin embargo, este proceso mecánico se afecta por defectos anatómicos adquiridos como la mala conformación perineal, estiramiento de la vagina, un cérvix incompetente, útero penduloso o defectos degenerativos del miometrio o del endometrio.

La susceptibilidad para que estos procesos sucedan se asocia directamente con el apareamiento y los partos repetidos o el aumento de la edad de la yegua (LeBlanc *et al.*, 1989). Además, algunas hembras pueden tener reducción en la actividad mioeléctrica del miometrio, influenciada por la combinación de factores de la yegua y factores inmunológicos, endocrinos y químicos que se asocian a la inflamación (Troedsson, 1999). Es por ello que la interferencia en la evacuación de fluidos uterinos a través del cérvix y de los vasos linfáticos después de la cobertura, contribuye a la progresión de cambios degenerativos del endometrio (Reilas *et al.*, 2016).

La endometritis resultante se convierte en un círculo vicioso que genera una inflamación grave que produce fibrosis y posteriormente acumulación de líquido. Una defectuosa respuesta mecánica predispone a una posible endometritis bacteriana o fúngica (Katila, 2016). Cuando una yegua se aparea o es inseminada la abertura vulvar, la unión vaginovestibular y el cérvix se abren permitiendo el ingreso de bacterias (Caslick, 1937). Existen dos tipos de endometritis:

4.3.1. Endometritis no Infecciosa

Todas las yeguas experimentan cierto grado de endometritis fisiológica post cobertura. Esta inflamación se produce como respuesta a la monta o inseminación artificial (Hughes & Loy, 1969).

4.3.2. Endometritis Infecciosa

4.3.2.1. Endometritis Bacteriana. En ocasiones la yegua no logra resolver su endometritis fisiológica, desarrollando PBIE. Si la inflamación se combina con un desafío concurrente de organismos patógenos, puede progresar a una endometritis infecciosa. En el año 2009, LeBlanc & Causey reportaron que el 60% de las yeguas estériles fueron diagnosticadas con endometritis bacteriana. Las bacterias más comunes aisladas del útero de yeguas incluían *Escherichia coli* y *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (Davis *et al.*, 2013; Cristoffersen *et al.*, 2015).

4.3.2.2. Endometritis Fúngica. Este tipo de endometritis es menos frecuente (Zafraza, 1975). Dascanio *et al* (2001), reportaron que su ocurrencia es del 1-5% en yeguas diagnosticadas con endometritis infecciosa. Se presenta con mayor frecuencia por el uso indiscriminado de antibióticos

(Zafraca, 1975) y por condiciones físicas como neumovagina, urovagina, disminución del aclaramiento de líquido uterino, defectos cervicales, inmunosupresión, focos necróticos y defectos perineales (Dascanio *et al.*, 2001; Stout, 2008). El uso de antibióticos para tratar y/o prevenir PBIE altera la flora normal del tracto reproductor caudal de la yegua, facilitando la colonización fúngica de la bóveda vaginal, la fosa del clítoris y los senos del clítoris (Zafraca, 1975; Blue, 1987). Los organismos fúngicos aislados con mayor frecuencia son levaduras, candida y organismos como *Aspergillus* spp. y *Mucor* spp (Coutinho da Silva & Alvarenga, 2011).

4.3.3. Diagnóstico de Endometritis

El diagnóstico de endometritis post cobertura implica examinar el tracto reproductivo dentro de las 48 horas posteriores al servicio (LeBlanc, 2010). Los signos físicos de endometritis incluyen secreción vulvar, secreción cervical visualizada a través del espéculo vaginal y la acumulación de líquido uterino detectado por ultrasonografía (Gallacher *et al.*, 2018).

4.3.3.1. Examen Transrectal y Ultrasonografía. El ultrasonido permite evaluar la acumulación de líquido uterino durante la ovulación. La presencia de líquido uterino de 2 o más cm durante el estro o entre 6 a 36 horas después de la cría, indica que la hembra es susceptible a PBIE o incapaz de limpiar el útero después del parto (Ginther & Utt, 2004). Por otra parte, la presencia de este fluido durante el diestro es un claro indicativo de endometritis (Adams *et al.*, 1987). El fluido uterino por lo general contiene *Streptococcus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* y algunas levaduras (Pozor & McDonnel, 2004).

4.3.3.2. Vaginoscopia. Evalúa la mucosa vestibular y vaginal, identificando si la condición es normal (rosada, pálida, húmeda), o si hay alguna alteración (hiperemia, isquemia, cianosis) (Blanchard *et al.*, 1998). Además, se examina la presencia de flujo vaginal y la condición del orificio externo del cérvix (Greenhoff *et al.*, 1975).

4.3.3.3. Citología. La citología utiliza un cepillo que permite analizar las células epiteliales, leucocitos (PMNNs neutrófilos y monocitos), eritrocitos, bacterias, levaduras, hifas, entre otras (LeBlanc, 2010; Ferris, 2016). Se

debe realizar entre el tercer y quinto día de estro, debido a que en cualquier otro momento del ciclo estral se podría producir un falso negativo tras la acción que realiza la progesterona al disminuir la salida de células hacia la luz uterina (Walter *et al.*, 2012). La severidad de la inflamación se estima con el conteo de PMN observados e hiper-segmentados representa inflamación no séptica (Riddle *et al.*, 2007); PMN con picnosis, carioquísis, cariorrexis y cariólisis representan infección severa o séptica; la presencia de linfocitos representa inflamación crónica (Davis *et al.*, 2013).

La endometritis se clasifica según el tipo y número de células. Endometritis aguda tras identificar más de dos neutrófilos por campo, endometritis crónica al identificar linfocitos, endometritis fúngica al identificar hifas y esporas, endometritis irritativa al identificar eosinófilos (LeBlanc & Causey, 2009).

4.3.3.4. Cultivo y Antibiograma. Al cultivo y antibiograma se considera la técnica de diagnosticar más importante para identificar el agente causal infeccioso (Overbeck *et al.*, 2011). Esta técnica se puede realizar al principio del estro, tiempo en el que el cérvix está relajado, facilitando la entrada hacia el útero (Liu & Troedsson, 2008). Es importante realizar un muestreo consciente y responsable para evitar falsos negativos por la toma de una muestra errónea, o falsos positivos que son consecuencia del uso de material infectado, por contaminación de la vulva y vagina (LeBlanc & Causey, 2009).

Los patógenos más comunes aislados son *Streptococcus* β -hemolítico, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidermicus* y en menor medida *Staphylococcus*, *Klebsiella*, hongos y levaduras (Tibary *et al.*, 2014).

4.4. Tratamientos para Reducir la Inflamación del Útero

La endometritis en hembras domésticas se ha tratado tradicionalmente con antibióticos, oxitocina y lavajes uterinos. El uso de antibióticos es importante para resolver patologías infecciosas, pero puede provocar resistencia bacteriana, disminución de los mecanismos de defensa, dejar residuos y tener un alto costo (Singh *et al.*, 2000; Torres & Zarazaga, 2002). Por

ello, a lo largo de los años se han buscado alternativas terapéuticas para prevenir y resolver este problema (Fumuso *et al.*, 2007; Christoffersen *et al.*, 2012).

4.4.1. Antiinflamatorios Esteroideos

Los corticoides son utilizados para disminuir la respuesta inflamatoria que aparece en yeguas con PBIE (Bucca *et al.*, 2008). Su uso influye en la respuesta inmune no solo suprimiendo, sino que también potenciando los mecanismos locales de defensa a través de la acción inmunomoduladora (Wolf *et al.*, 2012). Además, disminuye el edema uterino, el líquido intrauterino y aumenta la claridad del fluido uterino (Johnson *et al.*, 2002). Uno de los más efectivos es la dexametasona que aumenta las tasas de preñez (LeBlanc, 2010).

4.4.2. Antiinflamatorios no Esteroideos (AINEs)

La enzima ciclooxigenasa (COX) tiene dos isoformas, COX-1 y COX-2. La COX-1 se expresa en la mayoría de tejidos, a comparación de la COX-2 que se expresa en las zonas de inflamación, neoplasias u otras circunstancias; además, se la considera la precursora de la endometritis (Palm *et al.*, 2008). Es por ello, que se ha confirmado que los AINEs al inhibir esta enzima disminuyen la inflamación del endometrio, inhiben la migración de PMN al endometrio (Koblischke *et al.*, 2008).

4.4.3. Agentes Ecbólicos

En yeguas que presentan celo, el aclaramiento uterino mejora tras administrar fármacos ecbólicos como la oxitocina y prostaglandina. La inyección de oxitocina a una dosis recomendada de 10 a 25 unidades produce contracciones miométriales de gran amplitud durante un periodo de 30 minutos (LeBlanc *et al.*, 1994; LeBlanc & Causey, 2009). Sin embargo, el éxito de la oxitocina se reduce cuando la yegua tiene anomalías anatómicas como un útero penduloso o cérvix cerrado, que no permiten el drenaje uterino (LeBlanc & Causey, 2009). Por otro lado, el uso de cloprostenol análogo de la PGF₂ α genera contracciones uterinas más débiles que la oxitocina, pero las mantiene durante 4 horas. Sin embargo, no se recomienda utilizarlo como ecbólico tras la ovulación, ya que genera efectos perjudiciales sobre la luteinización y la secreción de progesterona necesarias para el mantenimiento de la preñez (LeBlanc & Causey, 2009).

4.4.4. Lavado Uterino

El lavado uterino después de la inseminación representa una estrategia para prevenir y tratar PBIE, permite eliminar de forma física los líquidos y restos inflamatorios. Esta técnica es empleada cuando existe acumulación de líquido intrauterino hiperecoico o líquido intrauterino libre mayor a 2 o más cm (LeBlanc & Causey, 2009). Para realizarla se utiliza solución salina esteril o Ringer lactato (Allen *et al.*, 2007). Es importante elegir el momento adecuado para aplicar esta técnica, debido a que se ha demostrado que realizarla antes de la inseminación (Vanderwall & Woods, 2003) o a las 4 horas después de la inseminación no es perjudicial para la fertilidad, mientras que realizarla 0,5 a 2 horas después de la inseminación disminuyó las tasas de preñez (Brinsko *et al.*, 1990).

4.4.5. Plasma Seminal

El plasma seminal tiene un rol inmunomodulador al facilitar el tránsito de espermatozoides a través del útero. Las proteínas que lo componen como la lactoferrina representa una opción de tratamiento, ya que se comprobó que utilizar lactoferrina recombinante humana (hrLF) durante la inseminación, redujo la expresión de ARNm endometrial del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) después de la cobertura (Fedorka *et al.*, 2017) y de la interleucina 6 a 24 horas después de la cobertura (Coutinho da Silva *et al.*, 2017).

4.4.6. Células Madre

La infusión de células madre mesenquimales endometriales (eMSC) ayuda a tratar PBIE (Morris *et al.*, 2020) ya que genera efectos inmunomoduladores que reducen la influencia de PMN neutrófilos y aumentan la inducción de citocinas anti-inflamatorias (IL-6, IL-8, MCP-1, CCL5, TLR4) en el útero (Rink *et al.*, 2018).

4.4.7. Extracto de Pared Celular de *Mycobacterium*

El extracto de pared celular de *Mycobacterium* se considera un inmunomodulador ya que comprende dos ingredientes primarios, el inmunomodulador dimicolato de trehalosa y dipéptido de muramilo. Estos se dirigen hacia los monocitos y macrófagos, modulando la producción de varias citoquinas (Fumuso *et al.*, 2007).

4.4.8. Plasma Rico en Plaquetas

El plasma rico en plaquetas (PRP) fue desarrollado en 1970 por expertos hematólogos, como un producto para la transfusión de sangre en el tratamiento de trombocitopenia (Alves &

Grimalt, 2018). Es un hemoderivado, con alto contenido de plaquetas superior a la del plasma en condiciones basales; se produce en el laboratorio a través de centrifugaciones sucesivas (Chicharro *et al.*, 2018). Es rico en péptidos y proteínas de señalización, proporciona una fuente de factores de crecimiento, quimiocinas y citocinas (Muir *et al.*, 2019).

Las proteínas actúan a nivel de la adhesión celular (fibrina, fibronectina, y vitronectina), proporcionando el soporte estructural indispensable para la migración celular, la proliferación y el crecimiento tridimensional de los tejidos sobre los que actúa (Mehta & Watson, 2008). Por otro lado, las plaquetas secretan continuamente factores de crecimiento como: factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) (incluye isómeros $\alpha\alpha$, $\beta\beta$, y $\alpha\beta$), factor de crecimiento transformante (TGF)- β (incluye isómeros $\beta 1$ y $\beta 2$), factor plaquetario 4 (PF4), interleuquina (IL)-1, factor angiogénico derivado de las plaquetas (PDAF), factor de crecimiento endotelial (VEGF), epidérmico (EGF), endotelial derivado de las plaquetas (PDEGF), de células epiteliales (ECGF), insulina-like (IGF), osteocalcina, osteoconectina, fibrinógeno, vitronectina, fibronectina y trombospondina (TSP)-1 (Welsh, 2000; Bhanot & Alex, 2002; Marx, 2004).

El PRP tiene efecto sobre las células diana para los factores de crecimiento y sobre la matriz extracelular para la estimulación de la reparación y/o regeneración del tejido de forma global (Mehta & Watson, 2008). Se ha comprobado que su uso inhibe la migración de neutrófilos polimorfonucleares (PMN), suprime la expresión de citocinas proinflamatorias como IL-1 y TNF α y regula la inflamación intrauterina a través de la disminución de COX-2 expresión endometrial (Segabinazzi *et al.*, 2017). Además, posee propiedades antimicrobianas, y su inoculación intrauterina reduce las posibilidades de infección uterina después de la cobertura en yeguas (Segabinazzi, 2021).

5. Material y Métodos

5.1. Área de Estudio

El presente estudio se llevó a cabo en dos lugares diferentes de la ciudad de Loja, Ecuador. El estudio y colecta de muestras en la “Caballería Cazadores de los Ríos” ubicada al sureste de la ciudad de Loja, con coordenadas 4°00'36.6"S 79°11'13.9"W a una altitud promedio de 2101 msnm, con temperatura media 16,1°C, la humedad relativa 76,7%, precipitación 0,07 mm y nubosidad de 70%. El análisis de muestras y procesamiento de PRP se realizaron en el Centro de Biotecnología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Loja. Este estudio se llevó a cabo desde septiembre a diciembre del 2022.

Fuente: Google Earth



Figura 1. Mapa de Caballería Cazadores de los Ríos.

Fuente: Google Earth



Figura 2. Mapa del Centro de Biotecnología UNL.

5.2. Procedimiento

5.2.1. Enfoque metodológico

Esta investigación es un estudio de enfoque mixto de medidas repetidas. Los resultados se expresaron de forma cuantitativa.

5.2.2. Procesamiento y Análisis de la Información

Para las variables no paramétricas (células polimorfonucleares endometriales), se utilizó una regresión logística por medio del procedimiento GLIMMIX del SAS (SAS on Demand for Academics) considerando una distribución binomial y los resultados fueron transformados a una escala logarítmica. Los factores fijos fueron el tratamiento, el momento y la interacción de estos factores; y como variable aleatoria la yegua.

Para las variables paramétricas: edema endometrial y líquido intrauterino, se utilizó un modelo de medidas repetidas utilizando el procedimiento MIXED del SAS. Donde los factores fijos fueron el tratamiento, el tiempo y la interacción de estos factores; y como variable aleatoria, la yegua anidada al tratamiento. Se utilizó una matriz de varianzas-covarianzas de tipo simétrica compuesta.

Para comparar las medias se utilizó un t-test protegido.

La probabilidad de $p \leq 0,05$ indica que hubo diferencia significativa, y la probabilidad de $0,05 \leq p \leq 0,1$ indica que la diferencia se aproximó de ser significativa (hubo tendencia).

5.2.3. Diseño de la investigación

La presente investigación fue de tipo experimental, implementando el diseño *case-crossover*. Se realizó el acompañamiento de dos ciclos estrales de las yeguas, donde todos los animales pasaron por todos los tratamientos (Plasma rico en plaquetas o Ringer Lactato). En el primer ciclo 5 yeguas fueron sujetas al tratamiento con PRP y 4 yeguas fueron mimetizadas (control). En el segundo ciclo se intercambiaron los tratamientos.

5.2.4. Tamaño de la muestra y tipo de muestreo

Para el desarrollo de esta investigación, las yeguas fueron seleccionadas por medio de su historial reproductivo y de examen ginecológico, el cual incluyó la palpación rectal y el examen ultrasonográfico. Tras ello se seleccionó una población de 9 yeguas, cíclicas, sin raza definida, con un rango de edad entre 5 a 15 años, condición corporal 3, con el mismo manejo, pertenecientes a la caballería Cazadores de los Ríos. Los animales durante el día tenían una alimentación comprendida en libre pastoreo, más 4 kg de concentrado dividido en tres raciones al día, y con heno de avena dos veces al día; además recibían suplemento de sal mineral una vez al día y agua *ad libitum*.

5.2.5. Técnicas

5.2.5.1. Acompañamiento del Desarrollo Folicular. El desarrollo ovárico folicular de las yeguas se monitoreó diariamente mediante palpación y ultrasonografía transrectal utilizando un ecógrafo (modelo DP-50Vet, marca Mindray®, China) con sonda lineal transrectal (5.0 mHz). Durante la examinación se buscaba la presencia de un folículo \geq a 35 mm (Morel, 2020) y edema uterino grado 3 (Samper, 2009) para iniciar

la toma de muestras. Así mismo, fue evaluado la presencia o ausencia de líquido intrauterino (inflamación uterina >2cm) (Brinsko *et al.*, 2003; LeBlanc, 2010). El procedimiento se repitió a las 24 horas, tras haber sido aplicado el tratamiento (PRP o RL).

5.2.5.2. Evaluación del Proceso Inflamatorio Uterino: Citología Endometrial.

Inmediatamente tras haber concluido el estudio ecográfico, fue realizado un examen citológico endometrial. Fue utilizado un aparato adaptado para citología endometrial con cepillo ginecológico estéril. Una vez dentro del cuerpo del útero, se expuso al cepillo ginecológico para que entre en contacto con la pared del útero, se lo giró con cuidado varias veces procurando que entre en contacto con las células endometriales, luego se lo retrajo hacia el aparato. El material recolectado en el cepillo fue extendido de forma cuidadosa sobre tres láminas de portaobjetos y posteriormente teñidas con el kit de tinción rápida Kit Diff – Quick.

Las láminas fueron analizadas en un microscopio óptico (modelo EXC-120, marca ACCU-SCOPE, USA) en aumento de 400x, contando cuatrocientas células por lámina, clasificándolas en células endometriales (células cuboides o columnares con núcleo basófilo redondeado) (Fig. 3A) y células inflamatorias, principalmente neutrófilos (células polimorfonucleares) (Fig. 3B), determinando el porcentaje de células polimorfonucleares. El procedimiento se repitió a las 24 horas, tras haber sido aplicado el tratamiento (PRP o Ringer Lactato). A fin de calcular el grado de respuesta inflamatoria uterina, se consideraron los siguientes criterios de clasificación expuestos en la Tabla 2.

Tabla 2. Clasificación citológica según Brook, 1993 y Nielsen *et al.*, 2010.

Neutrófilos (%)	Grado de inflamación uterina
< 5	Normal (característico de yeguas en celo o en ausencia del mismo).
5 a 15	Leve
15 a 30	Moderado
> 30	Severo

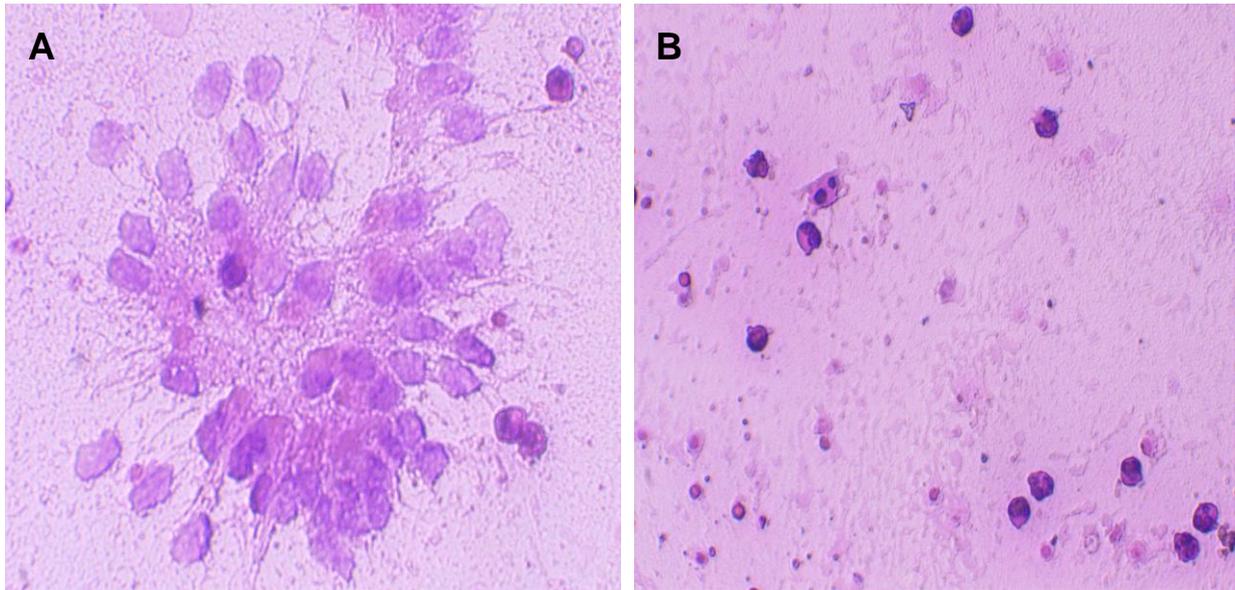


Figura 3. Citología uterina de yeguas; A: Células endometriales recolectadas durante el estro antes de la inseminación artificial; B: Presencia de células polimorfonucleares recolectadas 24 h después de haber aplicado el tratamiento (Ringer Lactato o PRP).

5.2.5.3. Recolección de Semen e Inseminación Artificial. Para esta técnica se utilizó un único semental sin raza definida de cinco años. Para la selección se tuvo en cuenta la historia reproductiva y el examen andrológico completo, en el cual se evaluó el comportamiento sexual, medición del perímetro escrotal, palpación de la consistencia testicular y espermiograma completo, verificando así su capacidad reproductiva.

Antes de cada colecta, fue necesario higienizar el pene y prepucio del garañón con ayuda de gasas empapadas en agua tibia. Para estimular al garañón se presentó una yegua en celo, con sus extremidades maneadas. La recolección de semen se realizó a través de vagina artificial modelo Botucatu (Botupharma® – SP – Brasil). Una vez colectada la muestra seminal, los espermatozoides fueron sometidos a *flash frozen*, causando la lesión de la membrana, ausencia de motilidad, obteniendo un semen de baja calidad que genera inflamación endometrial, utilizando una dosis de $1\ 000 \times 10^6$ sptz.

La inseminación artificial (IA) fue realizada inmediatamente después de la citología endometrial. Se realizó en el cuerpo del útero utilizando una pipeta rígida para inseminación artificial (Provar®, Provar Comercial, São Paulo, SP-Brasil), de 60 cm de largo.

5.2.5.4. Extracción, Preparación y Colocación de Plasma Rico en Plaquetas.

Luego de la inseminación artificial, se recolectaron 100 mL de sangre de cada yegua a través de una venopunción de la vena yugular con aguja vacutainer 21G, en 20 tubos de tapa azul con citrato de sodio 3,2% (anticoagulante) de 5 mL. Las muestras fueron centrifugadas (Eppendorf® 5702, Germany) a $2315 \times g$ durante 15 min. Dentro de la cabina de flujo laminar ((Biotraza® BSC-1300 II A2-X, China) se aspiró de cada tubo 2 mL del plasma que se encontraba por encima de la capa leucocitaria y de hematíes, luego se transfirió a tubos de tapa roja de 10 mL y nuevamente se centrifugó a $579 \times g$ durante 10 min.

Después de la segunda centrifugación, se conservaron 2 mL de plasma del fondo de cada tubo y fueron transferidos a tubos falcon, completando un volumen de 20 mL de plasma del fondo de cada tubo y fueron transferidos a tubos falcon, completando un volumen de 20 mL de plasma rico en plaquetas (PRP). La concentración de plaquetas promedio fue de 1850.5×10^3 en un rango que varía de 1402,5 - $2885 \times 10^3/\mu\text{L}$ y el total de plaquetas aplicadas de la misma forma que la IA sobre el endometrio fue de $37.01 \pm 12.13 \times 10^9$.

5.2.5.5. Colocación de Ringer Lactato. Para el grupo de yeguas con mimetización, fue colocado 20 mL de Ringer Lactato (RL) en el cuerpo del útero, igual que en la IA.

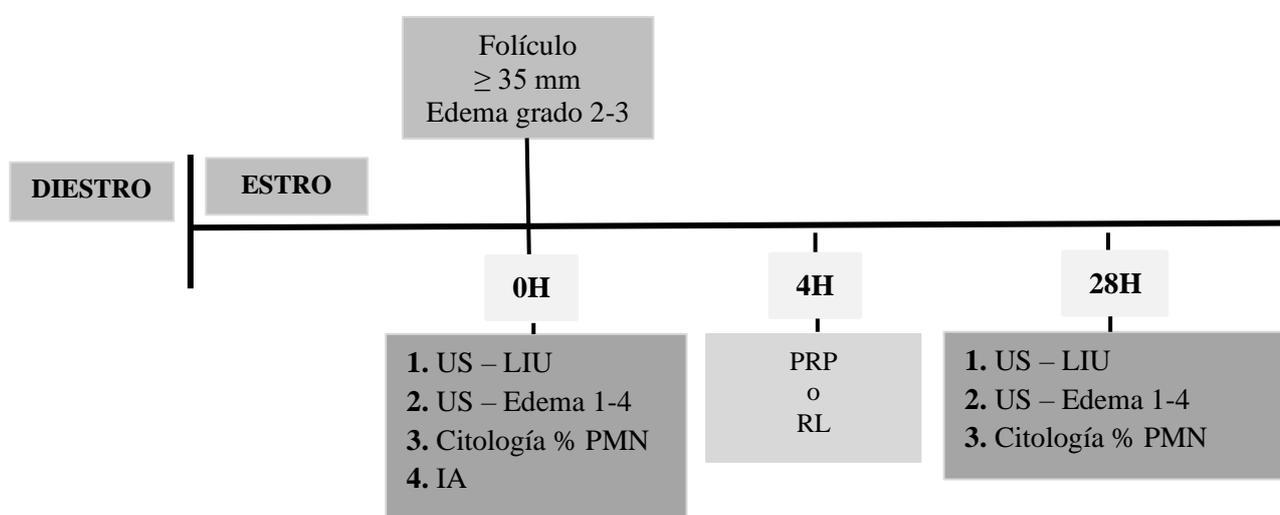


Figura 4. Esquema experimental simplificado. US (ultrasonografía endometrial); PMN (células polimorfonucleares); IA (inseminación artificial); PRP (plasma rico en plaquetas); RL (ringer lactato); H (horas).

6. Resultados

A continuación, se presentan los resultados del grado de edema endometrial, tamaño de líquido intrauterino, evaluados mediante ecografía transrectal y porcentajes de células PMN de citología endometrial de yeguas (n=9), durante el estro antes de la inseminación artificial y 24 horas después de haber aplicado Ringer Lactato (RL) o Plasma Rico en Plaquetas (PRP).

6.1. Edema endometrial

No se logró evidenciar un efecto ($p > 0.05$) del tratamiento sobre el grado de edema endometrial (Fig. 4), hubo un efecto del tiempo ($p < 0.001$) y no hubo interacción del tratamiento por el tiempo. El edema endometrial antes de la IA tuvo un grado entre 2,77 a 2,88 y a las 24 horas tras haberse aplicado el tratamiento (RL o PRP), el edema disminuyó en un 37% en ambos grupos.

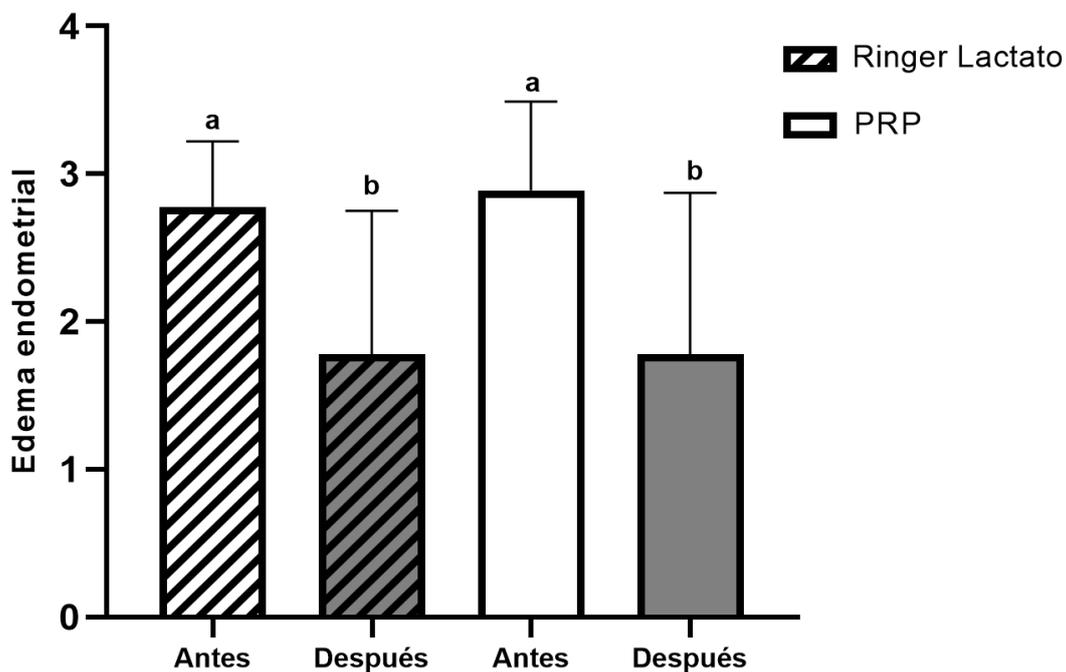


Figura 5. Medias \pm desviación estándar del grado de edema endometrial de yeguas (n=9) durante el estro antes de la inseminación artificial y 24 horas después de la aplicación de Ringer Lactato (RL) o Plasma Rico en Plaquetas (PRP).

a,b Letras diferentes sobre las barras indican diferencia estadística ($p \leq 0,05$).

6.2. Acumulación de líquido intrauterino

No se observó un efecto significativo del tratamiento ($p > 0.05$) (Fig. 6). Por otro lado, hubo efecto del tiempo ($p < 0.049$), donde el tamaño de líquido intrauterino fue menor antes

de la IA para el tratamiento con Ringer lactato que después de la aplicación del tratamiento con PRP, resultado fisiológicamente no relevante, ya que no existieron diferencias entre el antes y el después de cada tratamiento respectivamente. No hubo interacción del tratamiento por el tiempo.

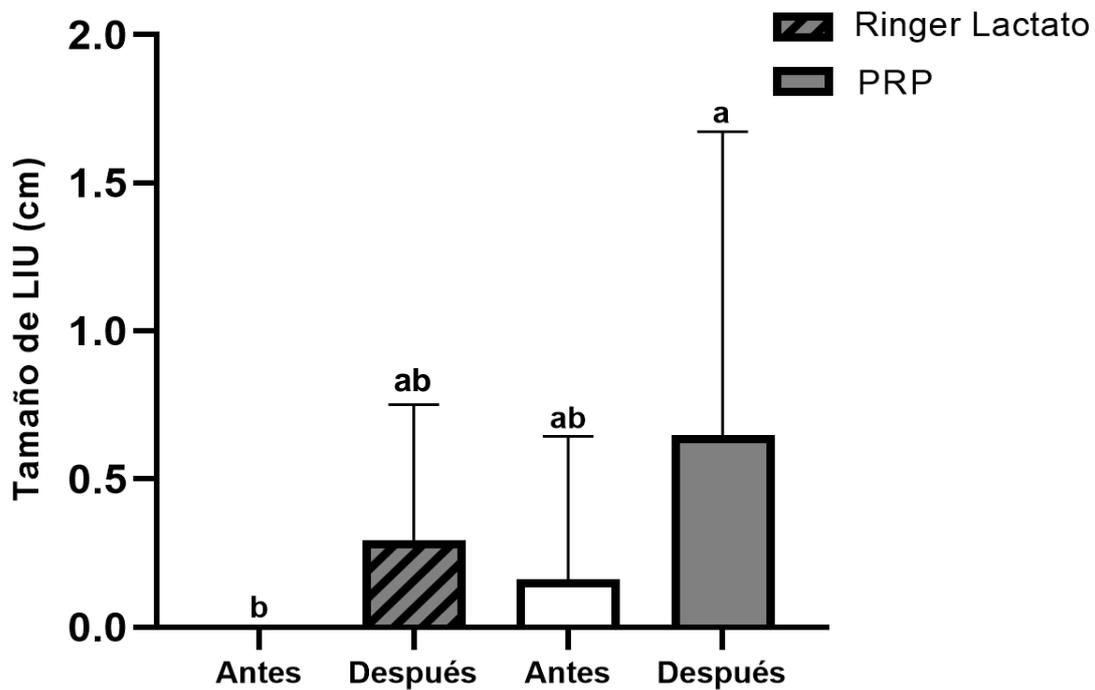


Figura 6. Medias \pm desviación estándar del tamaño de líquido intrauterino de yeguas (n=9) durante el estro antes de la inseminación artificial y 24 horas después de la aplicación de Ringer Lactato (RL) o Plasma Rico en Plaquetas (PRP).

a,b Letras diferentes sobre las barras indican diferencia estadística ($p \leq 0,05$).

6.3. Citología endometrial

Se logró evidenciar un efecto del tratamiento ($p < 0.001$) (Fig. 7), donde el porcentaje de células polimorfonucleares presentes en el útero de yeguas fue menor tras la aplicación del tratamiento con PRP en comparación con RL. También hubo efecto del tiempo ($p < 0.001$), el porcentaje de células polimorfonucleares endometriales fue menor antes de la IA que después de haberse aplicado cualquiera de los tratamientos. No se observó interacción del tratamiento por el tiempo.

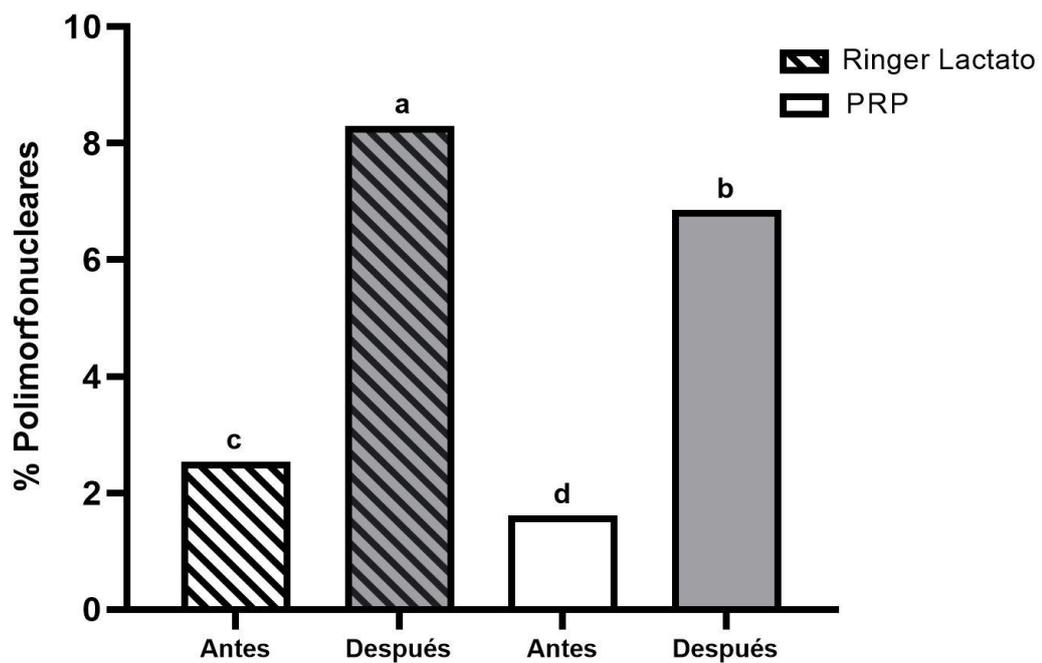


Figura 7. Media del porcentaje de células polimorfonucleares del útero de yeguas (n=9) durante el estro antes de la inseminación artificial y 24 horas después de la aplicación de Ringer Lactato (RL) o Plasma Rico en Plaquetas (PRP).

a,b Letras diferentes sobre las barras indican diferencia estadística ($p \leq 0,05$).

7. Discusión

En condiciones normales el grado de edema uterino está relacionado a la fisiología reproductiva de la yegua (Henry *et al.*, 1981; Ginther, 1992; Pelehach *et al.*, 2000). Durante el crecimiento folicular, las células de la granulosa producen estrógenos (Ginther *et al.*, 2008). Esta hormona está presente durante toda la fase estral de la yegua, pero su mayor concentración se presenta dos días antes de la ovulación; después disminuye notoriamente (Jacob *et al.*, 2009). Cuando existe una mayor cantidad de estrógenos circulando, los receptores de progesterona endometriales aumentan, la progesterona trabaja a través de estos receptores, generando la disminución del edema uterino antes de que se presente la ovulación (Pelehach *et al.*, 2000); sugiriendo que la reducción del edema endometrial se evidencia a través del tiempo.

Las yeguas enfermas que padecen endometritis persistente inducida por cubrición (PBIE), se caracterizan por presentar inflamación endometrial junto con un edema excesivo, luego de la cubrición (Brito & Barth, 2003; Bucca *et al.*, 2008). En el año 2017, Segabinazzi y colaboradores, experimentaron utilizando yeguas susceptibles a PBIE; sus resultados sugirieron que la aplicación de plasma rico en plaquetas (PRP) no influye sobre el aumento o reducción del edema endometrial. En el presente estudio, el edema endometrial disminuyó de manera fisiológica, tras haber trabajado con yeguas reproductivamente sanas.

El proceso de cubrición genera una endometritis fisiológica, ya que los espermatozoides del caballo estimulan al activar la cascada del complemento, aumentando la C3b y C5a, leucotrienos y prostaglandinas, que producen quimiotaxis de los polimorfonucleares hacia el útero (Pycock & Allen, 1990; Katila, 2001). Inmediatamente se genera una respuesta inflamatoria aguda, que elimina el exceso de espermatozoides, plasma seminal y contaminantes antes de que el embrión entre al útero (Katila, 1995, Canisso *et al.*, 2020).

Cuando microorganismos ingresan al lumen uterino, se liberan metabolitos del ácido araquidónico como prostaglandina (PGE2) y leucotrieno B4, los mismos que activan las células del endotelio vascular, que conducen a la formación de arteriolas y dilatación de vénulas en los sitios afectados; incrementando la permeabilidad vascular, y generando el influjo de proteínas séricas y neutrófilos hacia el lumen uterino (Watson *et al.*, 1987a; Williamson *et al.*, 1987; Pycock & Allen, 1990).

En yeguas sanas a las 8 horas posterior a la cubrición se muestra un pico de concentración de líquido intrauterino (LIU) (Katila, 1995), este cuando acumulado se elimina al cabo de 6-12 horas gracias a las contracciones del miometrio (Troedsson, 1997). Después de 48 horas post inseminación, no se suele evidenciar la presencia de líquido a través de ecografía

(Pycock & Newcombe, 1996). Sin embargo, las yeguas susceptibles acumulan LIU y retienen edema endometrial durante 3 a 5 días después de la inseminación artificial (IA) (Allen & Pycock, 1988; LeBlanc *et al.*, 1989; Causey 2006).

La inoculación de PRP a nivel uterino, reduce la acumulación de líquido en yeguas con endometritis persistente post cubrición (PMIE) (Reghini *et al.*, 2014), yeguas estériles y yeguas con endometritis crónica degenerativa (CDE) (Metcalf, 2014; Reghini *et al.*, 2016; Segabinazzi *et al.*, 2021). Sin embargo, en un estudio realizado en yeguas, que presentaban acumulación de líquido (> 10 mm) 24 h después de la IA, número exacerbado de neutrófilos (> 20 %) 48 h después de la IA, y bajas tasas de recuperación embrionaria (< 30%), se administró PRP en el endometrio, en sus resultados no se obtuvo diferencia en la acumulación de LIU; asociándolo a la gran variabilidad que existía entre las yeguas, con una desviación estándar alta entre sus resultados (Segabinazzi *et al.*, 2017).

Otros estudios mostraron resultados similares utilizando inmunomoduladores, donde disminuyeron los marcadores inflamatorios uterinos, pero no se evidenció cambios en tamaño de LIU; asociándolo a fallos en la contractilidad miometrial (Troedsson *et al.*, 1993; Leblanc *et al.*, 1998; Reitzenstein *et al.*, 2002). En este estudio, se evidenció que el proceso de cubrición genera acumulación de líquido intrauterino. A las 24h luego de haber aplicado el tratamiento, continuó la presencia de LIU en el 38% de las yeguas; el mismo que podría haber desaparecido si se hubiese realizado ecografía a las 48h, tras haber trabajado con yeguas reproductivamente sanas.

Como consecuencia de la endometritis se genera quimioatracción de los polimorfonucleares (PMN), mediada principalmente por la citoquina CXCL8 (Bendinelli *et al.*, 2010; Van Buul *et al.*, 2011). Se ha comprobado que la aplicación de plasma rico en plaquetas tiene efecto inmunomodulador a través de la inhibición del NF- κ B (Bendinelli *et al.*, 2010; Van Buul *et al.*, 2011), como consecuencia se inhibe la migración de neutrófilos al tejido inflamado, regula las moléculas de adhesión celular vascular (VCAM) (Mazzoca *et al.*, 2013) y la expresión de citoquinas proinflamatorias (Kim *et al.*, 2014; Sundmn *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2011) en el endometrio de las yeguas (Metcalf *et al.*, 2012; Segabinazzi *et al.*, 2017). En este estudio se evidenció que el PRP reduce el porcentaje de células polimorfonucleares de la mucosa endometrial en comparación con la aplicación de Ringer lactato después de la cubrición.

La técnica de preparación del PRP influye sobre la concentración de plaquetas. Segabinazzi, (2021) utilizó la sangre de 18 yeguas sanas para procesar PRP a través de tres

métodos. En el primer método empleó dos centrifugaciones a diferentes velocidades (400 x g/15 min; 1000 x g/10 min) y obtuvo una concentración de $425-960 \times 10^3$ plaquetas/ μL , en el segundo realizó una única centrifugación (120 x g/10 min) con una concentración de $230-460 \times 10^3$ plaquetas/ μL y en el tercero probó la sedimentación de plaquetas sobre la propia jeringa durante 4 hrs, obteniendo una concentración de $180-435 \times 10^3$ plaquetas/ μL ; concluye que las tres técnicas concentran 3 plaquetas y no afectan a la viabilidad de las mismas. El primer método tuvo mayores concentraciones de plaquetas en comparación con el método 2 y 3.

Otro estudio utilizó una primera centrifugación a 120 x g/10 min, y una segunda a 240 x g/10 min obtuvo una concentración de 250×10^3 plaquetas/ μL , concluyeron que esta cantidad modula la respuesta inflamatoria después de inseminar a yeguas con endometritis crónica degenerativa (CDE), al reducir la entrada de células polimorfonucleares a la luz uterina y prevenir la retención de LIU (Reghini *et al.*, 2016). En otra investigación, la primera centrifugación fue a 400 x g/15 min y la segunda a 1000 x g/ 10 min con una concentración de 622.9×10^3 plaquetas/ μL , sugirieron que el PRP mitiga la respuesta inflamatoria uterina post-cubrición en yeguas donantes de embriones susceptibles a PBIE (Segabinazzi *et al.*, 2021).

Las altas concentraciones de plaquetas en PRP se alcanzan mediante la combinación de altas velocidades de centrifugado, bajas temperaturas y varios ciclos de centrifugado (Alsousou *et al.*, 2013; De Pascale *et al.*, 2015). Lo que puede influir sobre la integridad de las plaquetas, al ser posible que su capacidad regenerativa sobre tejidos se altere y no garantice una alta concentración de factores de crecimiento (Etulain, 2018). Sin embargo, en este estudio, se utilizó una primera centrifugación a alta velocidad (2315 x g/15min), seguida de una segunda a menor velocidad (579 x g/10min), donde efectivamente se obtuvo un mayor número de plaquetas ($1402,5 - 2885 \times 10^3$ plaquetas/ μL), que al ser aplicadas sobre el tejido endometrial resultaron eficientes para reducir el porcentaje de células polimorfonucleares.

8. Conclusión

El plasma rico en plaquetas inoculado a nivel intrauterino disminuye el proceso inflamatorio en yeguas post-cubrición, tratamiento que resulta efectivo para mitigar la endometritis. Este disminuye de forma eficiente el porcentaje de células polimorfonucleares en la mucosa endometrial.

Por otro lado, el plasma no altera el grado de edema endometrial y no influye en el tamaño de líquido intrauterino de yeguas con endometritis fisiológica post inseminación.

9. Recomendaciones

Se recomienda para futuras investigaciones realizar el estudio ultrasonográfico a las 0h, 24h, 48h, 72h, para evidenciar la presencia de líquido intrauterino a través del tiempo en yeguas sanas.

Se recomienda utilizar un kit de tinción rápida efectivo, que permita evidenciar de forma clara las células endometriales y las células polimorfonucleares.

Se recomienda implementar la inoculación de plasma rico en plaquetas sobre otras especies para mitigar respuestas inflamatorias en diferentes tejidos.

10. Bibliografía

- Alexander, S. L., & Irvine, C. H. G. (1987). Secretion rates and short-term patterns of gonadotrophin-releasing hormone, FSH and LH throughout the periovulatory period in the mare. *Journal of endocrinology*, 114(3), 351-362.
- Allen, W. & Pycock, J. (1988). *Cyclical accumulation of uterine fluid in mares with lowered resistance to endometritis*. *Veter Rec* 122, 489–490.
- Allen W., Brown, L., Wright, M. & Wilsher, S. (2007). Reproductive efficiency of flatrace and national hunt thoroughbred mares and stallions in England. *Equine Veterinary Journal* 39 438-448.
- Alsousou, J., Ali, A., Willett, K. & Harrison, P. (2013). The role of platelet-rich plasma in tissue regeneration. *Platelets*. 24(3):173–182. doi:10.3109/09537104.2012.684730.
- Alves, R. & Grimalt, R. (2018). A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. *Skin Appendage Disorders* 4 (1):18–24
- Andrade Souza, F., Pérez Osorio, J., D'Oliveira-Sousa, A., Do Vale Filho, V. R. Marc, H., Chacón J., L., & Arias, S. A. (2011). Foliculogénesis y ovulación en la especie equina. *Revista de Medicina Veterinaria*, 22, 43.
- 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*, 35, 445-454
- Bandinelli, P., Matteucci, E., Dogliotti, G., Corsi, M., Banfi, G., Maroni, P. & Desiderio, M. (2010). Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich plasma on human chondrocytes: Mechanisms of NF-kappaB inhibition via HGF. *J Cell Physiol*; 225: 757-766.
- Bergfelt, D., Mann, B., Sheartz, N. & Ginther, O. (1991). Circulating concentrations of immunoreactive inhibin and FSH during the estrous cycle of mares. *Journal of Equine Veterinary Sciences*. 11:319-322.
[https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(06\)81260-8](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(06)81260-8)
- Bhanot, S. & Alex, J. (2002). Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plast Surg*; 18:27-33.
- Blanchard, T. L., Varner, D. D., & Schumacher, J. (1998). *Manual of equine reproduction*. Mosby.
- Blue, M. (1987). Myotic endometritis in mares. Review and clinical observations. *New*

Zealand Veterinary Journal **35** 181-183.

- Brinsko, S., Blanchard, T., Varner, D., Schumacher, J., Love, C., Hinrichs, K. & Hartman, D. (2011). *Manual of Equine Reproduction*. Missouri, Elsevier.
- Brinsko, S., Rigby, S., Varner, D. & Blanchard, T. (2003). *A practical method for recognizing mares susceptible to post-breeding endometritis*. In AAEP Proc (Vol. 49, pp. 363-365).
- Brinsko, S., Varner, D., Blanchard, T. & Meyers, S. (1990). The effect of postbreeding uterine lavage on pregnancy rate in mares. *Theriogenology* 33 465-475
- Brito, L. & Barth, A. (2003). *Endometritis in mares*. Large Animal Veterinary Rounds; 3: 3.
- Brook, D. (1993). Uterine cytology. *Equine reproduction* 246–53.
- Brown-Douglas, C., Firth, E., Parkinson, T. & Fennessy, P. (2010). Onset of puberty in pasture-raised Thoroughbreds born in southern hemisphere spring and autumn. *Equine Veterinary Journal*, 36(6), 499–504.
- Bucca, S., Carli, A., Buckley, T., Dolci, G., & Fogarty, U. (2008). The use of dexamethasone administered to mares at breeding time in the modulation of persistent mating induced endometritis. *Theriogenology*, 70(7), 1093–1100.
- Canisso I., Segabinazzi, L. & Fedorka, C. (2020). Persistent breeding-induced endometritis in mares - a multifaceted challenge: from clinical aspects to immunopathogenesis and pathobiology. *International Journal of Molecular Sciences* 21 1432.
- Caslick, E. (1937). The vulva and the vulvo-vaginal orifice and its relation to genital health of the thoroughbred mare. *Cornell Veterinarian* **27** 178-187.
- Causey, R. (2006). *Making sense of equine uterine infections: the many faces of physical clearance*. *Vet J* 172, 405–421.
- Checura, C., Beg, M., Gastal, E., Gastal, M., Wiltbank, M., Parrish, J. & Ginther, O. (2009). *Effect of suppression of FSH with antagonist (acycline) before and during follicle deviation in the mare*. *Reproduction in Domestic Animals* . 44:504-511. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01222.x>
- Chicharro-Alcántara, D., Rubio-Zaragoza, M., Damiá-Giménez, E., Carrillo-Poveda, J. M., Cuervo-Serrato, B., Peláez-Gorrea, P., & Sopena-Juncosa, J. (2018). Platelet rich plasma: new insights for cutaneous wound healing management. *Journal of functional biomaterials*, 9(1), 10.
- Claes, A., Ball, B., Scoggin, K., Roser, J., Woodward, E., Davolli, G., Squires, E. & Troedsson, M. (2017). *The influence of age, antral follicle count and diestrous ovulations on estrous cycle characteristics of mares*. *Theriogenology*; 97:34-40.

- Coutinho Da Silva, M. & Alvarenga, M. (2011). Fungal endometritis. *In Equine Reproduction*. Eds AO Mckinnon, EL Squires, W Vaala & DD Varner. Danvers, Mass: Wiley-Blackwell Publishing.
- Cristoffersen, M., Soderlind, M., Rudefalk, S., Pedersen, H., Allen, J. & Krekeler, N. (2015). *Risk factors associated with uterine fluid after breeding caused by Streptococcus zooepidemicus*. *Theriogenology* 84 1283-1290.
- Christoffersen, M., Woodward, E., Bojesen, A., Petersen, M., Squires, E., Lehn-Jensen, H. & Troedsson, M. (2012). *Effect of immunomodulatory therapy on the endometrial inflammatory response to induced infectious endometritis in susceptible mares*. *Theriogenology*; 78: 991-1004
- Cortés, Z., Arechiga, C., Rincón, M., Rochín, F., López, M & Flores, G. (2018). Mare reproductive cycle. A Review. *Abanico Veterinario*, 8(3), 14–41. doi:10.21929/abavet2018.83.1
- Coutinho Da Silva, M., Darr, C., Moraes, L. & Forshey, B. (2017). Lactoferrin modulates uterine inflammation postbreeding in the mare. *Journal of Equine Veterinary Science* 56 63-67
- Cronin, J. G., Turner, M. L., Goetze, L., Bryant, C. E., & Sheldon, I. M. (2012). *Toll-like receptor 4 and MYD88-dependent signaling mechanisms of the innate immune system are essential for the response to lipopolysaccharide by epithelial and stromal cells of the bovine endometrium*. *Biology of Reproduction*, 86(2), 51.
- Dascanio, J. & McCue, P. (2014). *Equine reproductive procedures*. Wiley Blackwell.
- Dascanio, J., & McCue, P. (2021). *Equine reproductive procedures*. John Wiley & Sons.
- Dascanio, J., Schweizer, C. & Ley, W. (2001). Equine fungal endometritis. *Equine Veterinary Education* 13 324-329.
- Davis, H., Stanton, M., Thungrat, K. & Boothe, D. (2013). Uterine bacterial isolates from mares and their resistance to antimicrobials: 8,296 cases (2003-2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 242 977-983.
- Delgado, S., Vargas, C., Torrego, M., Gutierrez, I., Adrián, E., Mataix, A., & García, A. (2001). ¿Qué aportan los nuevos inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa 2. *Gerencia Atención Primaria. Área XI. Madrid, Insalud*, 296-302.
- De Pascale, M., Sommese, L., Casamassimi, A. & Napoli, C. (2015). Platelet derivatives in regenerative medicine: an update. *Transfus Med Rev.* 29(1):52–61. doi:10.1016/j.tmr.2014.11.001.

- Dyce, K. M., Sack, W. O., & Wensing, C. J. G. (2009). *Textbook of veterinary anatomy-E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Etulain, J. (2018). Platelets in wound healing and regenerative medicine. *Platelets*, 29(6), 556-568.
- Fedorka, C., Scoggin, K., Woodward, E., Squires, E., Ball, B. & Troedsson, M. (2017). The effect of select seminal plasma proteins on endometrial mRNA cytokine expression in mares susceptible to persistent mating-induced endometritis. *Reproduction in Domestic Animals* **52** 89-96
- Ferris, A. (2016). Endometritis: diagnostic tools for infectious endometritis. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, 32(3), 481-498.
- Fumuso, E., Aguilar, J., Guiguere, 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** 30-39.
- Fumuso, E., Giguère, S., Wade, J., Rogan, D., Videla-Dorna, I., Bowden, R. (2003). *Endometrial IL-1 b, IL-6 and TNF-a, mRNA expression in mares resistant or susceptible to post-breeding endometritis; effects of estrous cycle, artificial insemination and immunomodulation*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*; 96: 23–41.
- Gallacher, K., Woolford, L., Santos, L. & Kind, K. (2018). Real-time-in vivo microscopic imaging of equine endometrium using confocal laser endomicroscopy: preliminary observations and feasibility study. *Journal of Equine Veterinary Science* 66 106–107. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.05.153>
- Ginther, O. (1992). *Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects.*, 2nd ed., Wisconsin, USA: Equiservices, Cross Plains; pp. 193
- Ginther, O. J., & Utt, M. D. (2004). Doppler ultrasound in equine reproduction: Principles, techniques, and potential. *Journal of Equine Veterinary Science*, 24(12), 516–526. <http://doi.org/10.1016/j.jevs.2004.11.005>
- Ginther, O., Gastal, E., Gastal, M. & Beg, M. (2008). Passage of postovulatory follicular fluid into the peritoneal cavity and the effect on concentrations of circulating hormones in mares. *Animal Reproduction Science* . 107:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.03.014>
- González, R., Poza, P., Vives, R. & Canto, G. (2002). Antiinflamatorios inhibidores selectivos

- de la ciclooxigenasa-2 (COX-2). *Alergol Inmunología Clínica*; 17: 247-254.
- Greenhoff, G. R., & Kenney, R. M. (1975). Evaluation of reproductive status of nonpregnant mares. *Journal American Veterinary Medical Association*, 167, 449 – 458.
- Hafez, E. (2002). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. 7 edición. México: Nueva editorial interamericana.
- Hansen, P. (2016). *Immunology of Reproduction*. *Reproduction in Farm Animals*, 341–353. doi:10.1002/9781119265306.ch23
- Henry, M., Vandeplassche, G., Coryn, M., Spincemaille, J., Vandeplassche, M. (1981). Excessive edema of the genital tract in the mare. *Zentralbl. Veterinarmed. A*, 28, 898–390–409
- Herath, S., Fischer, D. P., Werling, D., Williams, E. J., Lilly, S. T., Dobson, H. & Sheldon, I. M. (2006). *Expression and function of toll-like receptor 4 in the endometrial cells of the uterus*. *Endocrinology*, 147(1), 562–570
- Hughes, J. & Loy, R. (1969). *Proc. Am. Ass. equine Practit.* p. 289.
- Hunt, J., Miller, L. & Platt, J. (1998). *Hormonal Regulation of Uterine Macrophages*. *Developmental Immunology*; 6: 105-110.
- Jacob, J., Gastal, E.L., Gastal, M.O., Carvalho, G., Beg, M. & Ginther, O. (2009). Temporal relationships and repeatability of follicle diameters and hormone concentrations within individuals in mares. *Reproduction in Domestic Animals* . 44:92-99.
- Johnson, P. J., Slight, S. H., Ganjam, V. K., & Kreeger, J. M. (2002). Glucocorticoids and laminitis in the horse. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, 18(2), 219-236.
- Katila, T. (1995). *Onset and duration of uterine inflammatory response of mares after insemination with fresh semen*. *Biol Reprod Monogr Ser 1*: 515-517.
- Katila, T. (2001). *Sperm-uterine interactions: a review*. *Anim Reprod Sci* 68: 267-272.
- Katila, T. (2016). *Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis*. *Reproductive Biology* 16: 189-196. doi: 10.1016/j.repbio.2016.06.002
- Kawai, T., & Akira, S. (2010). *The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on Toll-like receptors*. *Nature Immunology*, 11(5), 373–384.
- Klein, B. G. (2020). *Cunningham. Fisiología Veterinaria*. Elsevier.
- Kim, J., Yeom, S., Koh, G., Yeo, E., Kang, T., Kang, M., Chang, S. & Lee, K. (2014). Anti-inflammatory effect of platelet-rich plasma on nucleus pulposus cells with response of TNF- α and IL-1. *J. Orthop. Res.* 32, 551–556
- Kimura, J., Hirano, Y., Takemoto, S., Nambo, Y., Ishinazaka, T., Mishima, T., Tsumagar, S.

- & Yokota, H. (2005). *Three-dimensional reconstruction of the equine ovary*. *Anatomy, Histology, Embryology*. 34:48-51. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2004.00567.x>
- Koblischke, P., Kindahl, H., Budik, S., Aurich, J., Palm, F., Walter, I., Kolodziejek, J., Nowotny, N., Hoppen, H-O., & Aurich, C. (2008). Embryo transfer induces a subclinical endometritis in recipient mares which can be prevented by treatment with nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Theriogenology*, 70 (7) ,1147–1158.
- LeBlanc, M. (2010). Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. *Reproduction in Domestic Animals* 45 (Supplement 2) 21-27.
- LeBlanc, M. & Causey, R. (2009). Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reproduction in Domestic Animals* 44 (Supplement 3) 10-22.
- LeBlanc, M., Asbury, A. & Lyle, S. (1989). Uterine clearance mechanisms during the early postovulatory period in mares. *American Journal of Veterinary Research* **50** 864-867.
- LeBlanc, M., Johnson, R., Calderwood-Mays, M. & Valderrama, C. (1995). Lymphatic clearance of india ink in reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. *Biology of Reproduction Monograph Series* **1** 109-113.
- 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** 279-282.
- Liu, I. K. M., & Troedsson, M. H. T. (2008). The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: Yesterday and today. *Theriogenology*, 70(3), 415-420.
- Marth, C. D., Young, N. D., Glenton, L. Y., Noden, D. M., Browning, G. F., & Krekeler, N. (2015). Deep sequencing of the uterine immune response to bacteria during the equine oestrous cycle. *BMC Genomics*, 16, 934.
- Marx, R. (2004). *Platelet-rich plasma: Evidence to support its use*. *J Oral Maxillofac Surg*; 62:489-96.
- Martinez, A. & Rivas, S. (2005) Funciones de la prostaglandina en el sistema nervioso central. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*; 48 (5): 210-216.
- Mazzocca, A., McCarthy, M., Intravia, J., Beitzel, K., Apostolakos, J., Cote, M., Bradley, J. & Arciero, R. (2013). An in vitro evaluation of the anti-inflammatory effects of platelet-rich plasma, ketorolac, and methylprednisolone. *Arthrosc. J. Arthrosc. Relat. Surg.* 29, 675–683
- Mehta, S. & Watson, J. (2008). *Platelet rich concentrate: basic science and current clinical*

- applications*. *J Orthop Trauma*; 22:432-8.
- Metcalf, E. (2014). *The effect of Platelet-Rich Plasma (PRP) on intraluminal fluid and pregnancy rates in mares susceptible to Persistent Mating-Induced Endometritis (PMIE)*. *J Equine Vet Sci*; 34: 128
- Morel, M. C. D. (2020). *Equine reproductive physiology, breeding and stud management*. CABI.
- Morel, M. D., Lawlor, O., & Nash, D. M. (2013). Equine endometrial cytology and bacteriology: effectiveness for predicting live foaling rates. *The Veterinary Journal*, 198(1), 206-211.
- Morris, L. H A., McCue, P. & Aurich, C. (2020). Equine endometritis: a review of challenges and new approaches. *Reproduction*, 160(5), 95–110.
- Muir, S. M., Reisbig, N., Baria, M., Kaeding, C., & Bertone, A. L. (2019). The concentration of plasma provides additional bioactive proteins in platelet and autologous protein solutions. *The American Journal of Sports Medicine*, 47(8), 1955-1963.
- Neely, D. P., Liu, I. K. M., & Hillman, R. B. (1989). *Reproducción equina*. Hemisferio Sur.
- Nielsen J, Troedsson M, Pedersen MR, Bojesen A, Lehn-Jensen H, Zent W. (2010). Diagnosis of endometritis in the mare based on bacteriological and cytological examinations of the endometrium: comparison of results obtained by swabs and biopsies. *J Equine Vet Sci* 30: 27-30. doi: 10.1016/j.jevs.2009.11.006
- Overbeck, W., Witte, T. S., & Heuwieser, W. (2011). Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. *Theriogenology*, 75(7), 1311-1318.
- Palm, F., Walter, I., Budik, S., Kolodziejek, J., Nowotny, N., & Aurich, C. (2008). Influence of different semen extenders and seminal plasma on PMN migration and on expression of IL-1b, IL-6, TNF-a and COX-2 mRNA in the equine endometrium. *Theriogenology*, 70(5), 843–851.
- Palmer, E., Driancourt, M.A. & Ortavant, R. (1982). Photoperiodic stimulation of the mare during winter anoestrus. *J Reprod Fertil Suppl*; 32:275-282.
- Palmer, E., Guillaume, D., (1992). Photoperiodism in the equine species—what is a long night. *Anim. Reprod. Sci.* **28**, 21–30
- Papa, F., Dell’aqua Jr, J., Alvarenga, M., Melo, C., Soares, Z. & Lopes, M. (2008). *Use of corticosteroid therapy on the modulation of uterine inflammatory response in mares after artificial insemination with frozen semen*. *Pferdeheilkunde*; 24: 79-82.
- Pasch, L., Schmidt, A. & King, W. (2021). Clinical observations after pre breeding intrauterine

- plasma infusion in 18 mares inseminated with thawed frozen semen. *J. Equine Vet. Sci*, 99, 103389.
- Pelehach, L., Sharp, D., Porter, M., Dixon, L. & McDowell, K. (2000). Role of oestrogen and progesterone in the control of uterine edema in pony mares. *Biol Reprod Suppl*;62:386
- Pozor, M. A., & McDonnell, S. M. (2004). Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions. *Theriogenology*, 61(5), 799–810. [http://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00227-9](http://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00227-9)
- Pycock, J. & Allen, W. (1990). Inflammatory components in uterine fluid from mares with experimentally induced bacterial endometritis. *Equine Veterinary Journal* 22, 422-425
- Pycock, J. & Newcombe, J. (1996). *Assessment of the effect of three treatments to remove intrauterine fluid on pregnancy rate in the mare*. *Vet Rec* 138: 320-323.
- Reghini, F., Bussiere, C., Neto, C., Castro-Chaves, M., Resende, L., Fioratti, E., Farras, C. & Alvarenga, M. (2014). Effect of use of platelet rich plasma on post-breeding uterine inflammatory response of mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, 1(34), 127.
- Reghini, F., Neto, C., Segabinazzi, L., Chaves, M., Camila de Paula, F., Bussiere, C., Dell'Aqua, J.A., Jr.; Papa, F.O. & Alvarenga, M. (2016). Inflammatory response in chronic degenerative endometritis mares treated with platelet-rich plasma. *Theriogenology*, 86, 516–522.
- Reilas, T., Rivera del Alamo, M., Liepina, E., Yeste, M. & Katila, T. (2016). Effects on the equine endometrium of cervical occlusion after insemination. *Theriogenology* 85 617-624.
- Reitzenstein, M., Callahan, M., Hansen, P. & LeBlanc, M. M. (2002) Aberrations in uterine contractile patterns in mares with delayed uterine clearance after administration of detomidine and oxytocin. *Theriogenology* 58, 887-898
- 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.
- Rink, B. E., Beyer, T., French, H. M., Watson, E., Aurich, C. & Donadeu, F. X. (2018). The fate of autologous endometrial mesenchymal stromal cells after application in the healthy equine uterus. *Stem Cells and Development*, 27(15), 1046–1052.
- Risco, A., Reilas, T., Muilu, L., Kareskoski, M. & Katila, T. (2009). Effect of oxytocin and flunixin meglumine on uterine response to insemination in mares. *Theriogenology* 72 1195-1201.

- Samper, J., Pycock, J. & Mc Kinnon, A. (2007). *Current therapy in equine reproduction*. Missouri, Elsevier, 492p.
- Samper, J. C. (2009). Uterine edema in the mare. *Equine breeding management and artificial insemination*, 2, 133-138.
- Segabinazzi, L. G., Friso, A. M., Correal, S. B., Crespilho, A. M., Dell'Aqua Jr, J. A., Miró, J., & Alvarenga, M. A. (2017). Uterine clinical findings, fertility rate, leucocyte migration, and COX-2 protein levels in the endometrial tissue of susceptible mares treated with platelet-rich plasma before and after AI. *Theriogenology*, 104, 120-126.
- Segabinazzi, L. G. T. M., Canisso, I. F., Podico, G., Cunha, L. L., Novello, G., Rosser, M. F. & Alvarenga, M. A. (2021). *Intrauterine Blood Plasma Platelet-Therapy Mitigates Persistent Breeding-Induced Endometritis, Reduces Uterine Infections, and Improves Embryo Recovery in Mares*. *Antibiotics*, 10(5), 490. doi:10.3390/antibiotics10050490
- Silva, E., Leitão, S., Henriques, S., Kowalewski, M. P., Hoffmann, B., FerreiraDias, G. & Mateus, L. (2010). Gene transcription of TLR2, TLR4, LPS ligands and prostaglandin synthesis enzymes are up-regulated in canine uteri with cystic endometrial hyperplasia–pyometra complex. *Journal of Reproductive Immunology*, 84(1), 66–74.
- Singh, J., Sidhu, S. S., Dhaliwal, G. S., Pangaonkar, G. R., Nanda, A. S., & Grewal, A. S. (2000). *Effectiveness of lipopolysaccharide as an intrauterine immunomodulator in curing bacterial endometritis in repeat breeding cross-bred cows*. *Animal reproduction science*, 59(3-4), 159-166.
- Sisson, S. & Grossman, J. D. (1982). *Anatomía de los animales domésticos* (No. 968-32-0254-3. PP 01-A5.). Salvat.
- Skinner, D., Richter, T., Malpaux, B. & Skinner, J. (2001). *Skinner, Annual Ovarian Cycles in an Aseasonal Breeder, the Springbok (Antidorcas marsupialis)*. *Biology of Reproduction*, Volume 64. <https://doi.org/10.1095/biolreprod64.4.1176>
- Sprayberry, K. & Robinson, E. (2014). *Equine medicine*. Robinson's Current Therapy in Equine Medicine 7th Edition
- Stout, T. (2008). Fungal endometritis in the mare. *Pferdeheilkunde Equine Medicine* 24 83-87.
- Sundman, E., Cole, B., Karas, V., Della Valle, C., Tetreault, M., Mohammed, H. & Fortier, L. (2014). The anti-inflammatory and matrix restorative mechanisms of platelet-rich plasma in osteoarthritis. *The American journal of sports medicine*, 42(1), 35-41.
- Tibary, A., & Ruiz, A. (2018). Uterine disorders in the mare: diagnostic approach, treatment and prevention. *SPERMOVA*, 8 (1). 1-24.

- Tizard, I. (2009). Cómo se activa la inflamación. En: Tizard I. Introducción a la Inmunología Veterinaria. 8ª ed., Barcelona, *Elsevier*; p: 11-27.
- Torres, C., & Zarazaga, M. (2002). Antibióticos como promotores del crecimiento en animales: ¿Vamos por el buen camino?. *Gaceta Sanitaria*, 16(2), 109-112.
- Traub, J.; Salman, M. & Voss, J. (1991). Medical problems of adult horses, as ranked by equine practitioners. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 198, 1745–1747.
- Troedsson, M. (1997). Therapeutic considerations for mating induced endometritis. *Pferdeheilkunde Equine Medicine* 13 516-520.
- Troedsson, M. (1999). Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology*, 52, 461–471.
- Troedsson, M., Liu, I. & Crabo, B. (1998). Transporte espermático y supervivencia en la yegua. *Theriogenology*, 49, 905-915.
- Troedsson, M., Liu, I., Ing, M., & Pascoe, J. (1995). Smooth muscle electrical activity in the oviduct and the effect of oxytocin, PGF2α and PGE2 on the myometrium and the oviduct of the cycling mare. *Biology of Reproduction Monograph 1: Equine Reproduction VI*, 439–452.
- Troedsson, M. H. T. & Woodward, E. (2016). Our current understanding of the pathophysiology of equine endometritis with an emphasis on breeding - induced endometritis. *Reproductive Biology* 16 8 - 12.
- Van Buul, G., Koevoet, W., Kops, N., Bos, P., Verhaar, J., Weinans, H., Bernsen, M. & Van Osch, G. (2011). Platelet-rich plasma releasate inhibits inflammatory processes in osteoarthritic chondrocytes. *Am J Sports Med* ; 39: 2362-2370
- Vanderwall, D. & Woods, G. (2003). Effect on fertility of uterine lavage performed immediately prior to insemination in mares. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 222 1108-1110
- Vane, J., Bakhle, Y. & Botting, R. (1998). Cyclooxygenases 1 and 2. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*; 38: 97–120.
- 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.
- Watson, E., Stokes, C.R., & Bourne, F.J., (1987a). Cellular and humoral defence mechanisms in mares susceptible and resistant to persistent endometritis. *Vet Immunol pathol* 16: 107-121.

- Watson, E. D., Stokes, C. R., David, J. S., Bourne, F. J., & Ricketts, S. W. (1987b). Concentrations of uterine luminal prostaglandins in mares with acute and persistent endometritis. *Equine Veterinary Journal*, 19(1), 31–37
- Watson, E. D., & Thomson, S. R. (1996). Lymphocyte subsets in the endometrium of genitally normal mares and mares susceptible to endometritis. *Equine Veterinary Journal*, 28(2), 106–110
- Welsh, W. (2000). *Autologous platelet gel: clinical function and usage in plastic surgery*. *Cosmetic Derm*; 11:13
- Williamson, P., Dunning, A., O'Connor, J., & Penhale, W. J. (1983). *Immunoglobulin levels, protein concentrations and alkaline phosphatase activity in uterine flushings from mares with endometritis*. *Theriogenology*, 19(3), 441–448
- Williamson, P., Munyua, S., Martin, R. & Penhale, W. (1987). *Dynamics of the acute uterine response to infection, endotoxin infusion and physical manipulation of the reproductive tract in the mare*. *J Reprod Fertil* 35: 317- 325.
- Wira, C. R., Fahey, J. V., Ghosh, M., Patel, M. V., Hickey, D. K., & Ochiel, D. O. (2010). Sex hormone regulation of innate immunity in the female reproductive tract: the role of epithelial cells in balancing reproductive potential with protection against sexually transmitted pathogens. *American journal of reproductive immunology*, 63(6), 544-565.
- Wolf, C. A., Maslchitzkyb, E., Gregorya, R. M., Jobima, M. I. M., & Mattosa, R. C. (2012). Effect of corticotherapy on proteomics of endometrial fluid from mares susceptible to persistent postbreeding endometritis. *Theriogeneology* 77(7), 1351 – 1359.
- Woodward, E. M., Christoffersen, M., Campos, J., Betancourt, A., Horohov, D., Scoggin, K. E. & Troedsson, M. H. T. (2013). Endometrial inflammatory markers of the early immune response in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis. *Reproduction*, 145(3), 289–296
- Wu, C., Chen, W., Zao, B., Lai, P., Lin, T., Lo, H. & Deng, W. P. (2011). Regenerative potentials of platelet-rich plasma enhanced by collagen in retrieving pro-inflammatory cytokine-inhibited chondrogenesis. *Biomaterials*, 32(25), 5847-5854.
- Youngquist, R. & Threlfall, W. (2007). *Current Therapy In Large Animal Theriogenology*. 2a ed. Inglaterra, Elsevier, 1088 p.
- Zafraça, A. (1975). Candida infection of the genital tract in Thoroughbred mares. *Journal of Reproduction and Fertility: Supplement* 23 349-351.

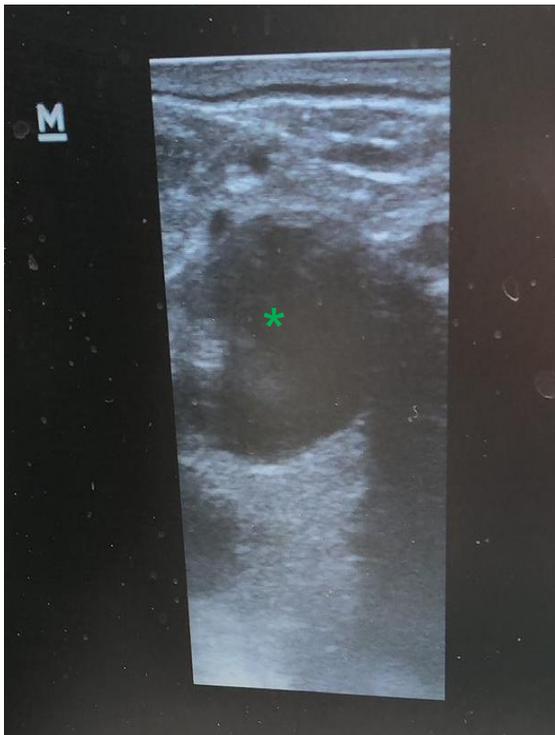
11. Anexos



Anexo 1. Palpación rectal para examen ginecológico equino.



Anexo 2. Ultrasonografía reproductiva de yegua, edema grado 2-3.



Anexo 3. Ultrasonografía rectal de yegua en estro; *folículo dominante.



Anexo 4. Ultrasonografía rectal de yegua; *líquido intrauterino.



Anexo 5. Evaluación microscópica de semen de caballo.



Anexo 6. Inseminación artificial en yegua.



Anexo 7. Toma de muestras citológicas intrauterinas.



Anexo 8. Aplicación intrauterina de Ringer Lactato.



Anexo 9. Preparación de plasma rico en plaquetas, dentro de cámara de flujo laminar.



Anexo 10. Centrifugación de plasma rico en plaquetas.



Anexo 11. Aplicación intrauterina de plasma rico en plaquetas.



Anexo 12. Aparato de citología intrauterina de yegua.

Anexo 13. Consideraciones éticas

Los animales fueron manejados con las normas para el cuidado y uso de animales en investigación según el “Código Orgánico del Ambiente” (ROS N° 983, Ecuador).

Anexo 14. Certificado de traducción de resumen del Trabajo de Integración Curricular

English Speak Up Center

Nosotros "*English Speak Up Center*"

CERTIFICAMOS que

La traducción del resumen del Proyecto de Titulación "EFECTO DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP) EN YEGUAS CON ENDOMETRITIS." documento adjunto solicitado por la señorita Ana Paola Andino Viteri con cédula de ciudadanía número 1105733685 ha sido realizada por el Centro Particular de Enseñanza de Idiomas "*English Speak Up Center*"

Esta es una traducción textual del documento adjunto. El traductor es competente y autorizado para realizar traducciones.

Loja, 17 de mayo de 2023

Elizabeth Sánchez Burneo
Mg. Sc. Elizabeth Sánchez Burneo
DIRECTORA ACADÉMICA

English Speak Up Center

DIRECCIÓN: SUCC. 207-48 ENTRE AZUAY Y MIGUEL BODRÍO	TELÉFONO: 099 5261 254
---	------------------------