



Descripción de los factores que afectan el éxito en la transferencia de embriones producidos por la técnica de ICSI en el CCC.

Trabajo de grado para optar por el título de Medicina Veterinaria

Camila Herrera Hoyos

Maria Claudia Puerta Vásquez
Medica Veterinaria y Zootecnista

Corporación Universitaria Lasallista
Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias
Medicina Veterinaria
Caldas, Antioquia
2025

Agradecimiento

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a mis padres, quienes han sido el pilar fundamental en mi vida y en la culminación de este trabajo de grado. Su apoyo incondicional, paciencia y confianza en mis capacidades fueron la motivación constante para no rendirme y dar siempre lo mejor de mí.

Agradezco de manera especial a Biohorse S.A.S., por abrirme sus puertas y brindarme la oportunidad de desarrollar mis prácticas profesionales en un entorno de aprendizaje tan enriquecedor. Su disposición para compartir conocimientos, su acompañamiento y la confianza depositada en mi trabajo fueron esenciales para el desarrollo de esta investigación.

Finalmente, extendiendo mi gratitud a todas las personas que, directa o indirectamente, contribuyeron con su tiempo, conocimientos o palabras de aliento. Cada uno de ustedes ha sido parte importante de este logro.

Resumen

La transferencia de embriones (TE), y más concretamente la técnica de inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), representa hoy una pieza fundamental en la reproducción equina moderna, especialmente cuando el objetivo es potenciar la genética o preservar razas de alto valor genético, como ocurre con el Caballo Criollo Colombiano (CCC). No obstante, alcanzar una gestación exitosa tras la transferencia de embriones obtenidos por ICSI sigue siendo un reto debido a la influencia de múltiples factores que aún no se comprenden por completo. Este estudio se centra en identificar y describir aquellos factores que afectan directamente el éxito de la transferencia de embriones obtenidos por ICSI en el CCC. Para ello, se revisaron los registros de yeguas receptoras incluidas en un programa de TE por ICSI en un centro especializado en biotecnologías de reproducción equina ubicado en la Sabana de Bogotá - Colombia, analizando variables como el tipo de ovulación de la receptora (natural o inducida con progesterona), el mes de la transferencia (enero a abril), la edad y calidad del embrión al momento de la transferencia, y el andar (fino o diagonal) del CCC del que provenía el embrión. Los resultados no evidenciaron asociaciones estadísticamente significativas entre todas las variables evaluadas y la preñez, lo que sugiere la necesidad de ampliar el tamaño de la muestra o considerar otros factores no contemplados en este estudio. La comprensión de cómo estas variables afectan la tasa de preñez es esencial para perfeccionar los protocolos de manejo reproductivo y optimizar la eficiencia y rentabilidad de los programas de cría del CCC y el manejo y sincronización de las yeguas receptoras destinadas para programas de embriones producidos por ICSI.

Palabras clave: Caballo Criollo Colombiano, Transferencia Embrionaria, ICSI, Preñez, Biotecnología Equina.

Abstract

Embryo transfer (ET), and in particular the technique of intracytoplasmic sperm injection (ICSI), is a key tool in modern equine reproduction, especially for enhancing genetics and preserving high-value breeds such as the Colombian Criollo Horse (CCC). However, achieving a successful pregnancy after the transfer of ICSI-derived embryos remains a challenge due to the influence of multiple factors that are not yet fully understood. This study aimed to identify and describe the factors that influence the success of this procedure in the CCC. For this purpose, records of recipient mares included in ICSI embryo transfer programs at a specialized equine reproduction biotechnology center were reviewed, analyzing variables such as the type of ovulation in the recipient (natural or progesterone-induced), the month of transfer (January to April), the embryo's age and quality at the time of transfer, and the gait (fino or diagonal) of the CCC from which the embryo originated. The results did not show statistically significant associations between all the variables evaluated and pregnancy outcomes, suggesting the need to increase sample size or consider other factors not addressed in this study. Understanding how these variables affect pregnancy rates is essential to improving reproductive management protocols and optimizing the efficiency and profitability of CCC breeding programs.

Keywords: Colombian Criollo Horse, Embryo Transfer, ICSI, Gestation, Equine Biotechnology

Contenido

Glosario.....	6
Introducción	8
Planteamiento del problema.....	10
Justificación	12
Objetivos.....	14
Objetivo general.....	14
Objetivos específicos	14
Alcance y limitaciones	15
Marco teórico	17
Metodología	42
Resultados	47
Discusión.....	51
Conclusiones	53
Referencias.....	56

Glosario

- 1. Blastocisto:** etapa temprana del desarrollo embrionario caracterizada por la formación de una cavidad interna llamada blastocele y la diferenciación de la masa celular interna y el trofoblasto.
- 2. Caballo Criollo Colombiano (CCC) :** raza equina originaria de Colombia, reconocida por su resistencia, temperamento dócil y variedad de andares, con gran importancia cultural y genética.
- 3. Cuerpo lúteo (CL) :** estructura temporal formada en el ovario después de la ovulación, encargada de producir progesterona para mantener el embarazo en sus primeras etapas.
- 4. Endometrio:** capa interna del útero, cuya preparación hormonal es esencial para la implantación y desarrollo inicial del embrión.
- 5. ICSI (Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides) :** técnica de reproducción asistida en la que un espermatozoide se introduce directamente en el citoplasma de un ovocito maduro para lograr la fecundación.
- 6. Progesterona:** hormona producida principalmente por el cuerpo lúteo, fundamental para preparar el endometrio, favorecer la implantación y mantener la gestación en sus etapas iniciales.
- 7. Sincronización donante-receptora:** coordinación del estadio fisiológico del útero de la yegua receptora con el desarrollo del embrión proveniente de la donante, fundamental para asegurar la implantación exitosa.
- 8. Transferencia de embriones (TE) :** procedimiento mediante el cual un embrión previamente producido (in vivo o in vitro) es colocado en el útero de una yegua receptora para que complete la gestación.

9. Vitrificación: método de criopreservación rápida que congela embriones evitando la formación de cristales de hielo que puedan dañarlos.

10. Yegua receptora: hembra equina que recibe el embrión proveniente de la yegua donante y lleva adelante la gestación. Debe presentar un ciclo reproductivo regular, buen estado de salud y un endometrio receptivo.

Introducción

En los últimos años, la biotecnología reproductiva en equinos ha avanzado considerablemente, permitiendo abordar problemas que antes limitaban la cría y el mejoramiento genético de razas de alto valor como el Caballo Criollo Colombiano. En este contexto, la técnica de inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) ha emergido como una herramienta clave para superar barreras reproductivas y optimizar programas de cría (Claes et al., 2016).

La producción in vitro (PIV) de embriones equinos mediante ICSI es un proceso complejo que solo ofrecen unos pocos laboratorios en todo el mundo. Durante los últimos 4–5 años, se ha producido un marcado aumento del interés en la IVEP entre los criadores de caballos. La OPU-ICSI se consideró inicialmente principalmente para yeguas subfértiles, a menudo de edad avanzada, que no podían concebir o producir un embrión viable mediante métodos de cría más estándar (apareamiento natural o inseminación artificial) debido a un bloqueo del oviducto, una infección uterina crónica o fibrosis, daños irreparables al tracto reproductivo o infertilidad de origen desconocido, así como para casos de subfertilidad en sementales (baja producción de espermatozoides, bajo número de espermatozoides normales o infertilidad idiopática). Sin embargo, existe una alta demanda por parte de los criadores de caballos de utilizar OPU-ICSI en yeguas fértiles y reproductivamente normales para permitir un uso más eficiente del limitado y costoso semen congelado/descongelado de sementales valiosos (Claes et al., 2016).

En línea con lo anterior, es importante considerar cómo las diferentes variables y factores asociados a la técnica pueden influir en el éxito de los programas reproductivos, especialmente en el caso del Caballo Criollo Colombiano.

La PIV de embriones equinos incluye con frecuencia la criopreservación mediante vitrificación (Galli et al., 2007) o congelación lenta (Stout, 2012). La criopreservación de embriones ofrece varias ventajas: permite seleccionar con mayor precisión a las yeguas receptoras, facilita la distribución internacional del material genético y maximiza el aprovechamiento tanto de donantes como de sementales (Galli et al., 2007; Stout, 2012). No obstante, la información sobre las tasas de éxito en términos de preñez y pérdida embrionaria tras la transferencia de embriones criopreservados sigue siendo limitada (Cuervo-Arango, Claes, & Stout, 2019).

La complejidad de estos procedimientos radica no solo en la técnica en sí, sino también en la interacción de múltiples factores biológicos y de manejo que pueden afectar el resultado (Squires, Garcia, & Ginther, 1985; Jacob et al., 2012). Investigaciones previas han demostrado que variables como la calidad del embrión, la condición fisiológica de la yegua receptora, el momento del ciclo reproductivo y la correcta sincronización entre donante y receptora influyen en la probabilidad de éxito (Tremoleda et al., 2003; Claes et al., 2016). En el caso del Caballo Criollo Colombiano, la escasez de estudios que consideren sus particularidades reproductivas y genéticas dificulta la implementación de protocolos optimizados para esta raza (Cuervo-Arango, Claes, & Stout, 2019).

El presente trabajo se enfoca en describir y analizar los factores que afectan el éxito de la transferencia de embriones producidos mediante ICSI en el CCC, evaluando variables como el tipo de ovulación de la yegua receptora (natural o inducida), el mes de transferencia, el estado de desarrollo del embrión en el momento de la implantación y las características fenotípicas del ejemplar donante, incluyendo su andar (Cuervo-Arango, Claes, & Stout, 2019). Se espera que los resultados obtenidos contribuyan a mejorar las tasas de preñez, optimizar protocolos y aportar información útil para la preservación y proyección de esta raza (Galli et al., 2014).

En cuanto a la estructura del trabajo, se presenta un marco teórico que aborda los fundamentos de la técnica ICSI, su evolución, aplicaciones y relevancia para el Caballo Criollo Colombiano, especificando también la técnica de transferencia de embriones y algunos factores que puedan afectar a esta. Luego, se describe la metodología utilizada para la recolección y análisis de datos. Posteriormente, se exponen y discuten los resultados obtenidos, contrastándolos con la literatura científica. Finalmente, se presentan las conclusiones y recomendaciones, con el objetivo de mejorar las prácticas reproductivas y proponer nuevas líneas de investigación que fortalezcan el uso de la biotecnología reproductiva en el Caballo Criollo Colombiano.

Planteamiento del problema

La reproducción asistida en equinos ha experimentado avances significativos en las últimas décadas gracias al desarrollo de biotecnologías que permiten superar limitaciones reproductivas y optimizar programas de cría (Rader, Choi, & Hinrichs, 2016). Entre estas, la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) se ha consolidado como una técnica clave para obtener embriones viables a partir de gametos seleccionados, sobre todo en casos donde la reproducción convencional presenta limitaciones como infertilidad idiopática, problemas de transporte espermático u obstrucciones anatómicas (Hinrichs et al., 2014). Su aplicación ha abierto nuevas posibilidades para criadores y veterinarios, no solo en el manejo de ejemplares con alto valor genético, sino también en la preservación de razas con relevancia cultural y económica.

El Caballo Criollo Colombiano (CCC) es una de las razas equinas más representativas del país, apreciada por su importancia histórica, económica y cultural. Su singularidad se refleja en andares característicos como el fino, la trocha y galope, y el trote y galope, así como en su adaptabilidad a distintas regiones del territorio nacional (Cuervo-Arango, Claes, & Stout, 2019). La preservación de esta raza es de gran interés para criadores, asociaciones ecuestres y el sector agropecuario, por lo que se hace necesaria la búsqueda de métodos reproductivos avanzados que permitan garantizar la continuidad de sus características genéticas y fenotípicas. En este sentido, la ICSI aplicada al CCC representa una alternativa prometedora, aunque su implementación enfrenta retos particulares debido a la escasez de estudios que determinen con precisión qué factores influyen de manera decisiva en el éxito reproductivo. La experiencia obtenida en razas deportivas y de alto rendimiento, como el Pura Sangre Inglés o el Warmblood, no siempre es aplicable al CCC, pues sus diferencias fisiológicas, reproductivas y de manejo pueden alterar los resultados (Cuervo-Arango, Claes, & Stout, 2019).

La producción in vitro de embriones mediante ICSI en equinos es un procedimiento técnicamente complejo que incluye la aspiración folicular ovárica (OPU), la fecundación asistida y el cultivo embrionario in vitro (Galli et al., 2014). En muchos casos, los embriones obtenidos

se criopreservan mediante vitrificación (Galli et al., 2007) o congelación lenta (Stout, 2012), lo que ofrece ventajas logísticas como la posibilidad de seleccionar con mayor precisión a las yeguas receptoras y facilitar la distribución internacional del material genético. Sin embargo, el éxito de la transferencia de estos embriones puede verse afectado por múltiples factores, entre ellos la calidad del embrión, el estado fisiológico de la receptora, la sincronización reproductiva entre donante y receptora, y las condiciones del cultivo (Squires, Garcia, & Ginther, 1985; Jacob et al., 2012).

En el caso del CCC, aún no se cuenta con suficiente investigación que evalúe de manera sistemática cómo influyen variables como el tipo de ovulación de la yegua receptora (natural o inducida), el mes en el que se realiza la transferencia, los días de desarrollo del embrión al momento de la implantación y el andar característico del ejemplar donante en las tasas de preñez (Tremoleda et al., 2003; Claes et al., 2016). Estudios en otras razas han demostrado que la asincronía entre el estado reproductivo de la receptora y el desarrollo embrionario puede reducir significativamente las tasas de gestación (Jacob et al., 2012) y que la calidad morfológica del embrión es un indicador importante del éxito reproductivo (Tremoleda et al., 2003). También se ha evidenciado que la criopreservación puede modificar la viabilidad embrionaria dependiendo de la técnica utilizada (Galli et al., 2007; Stout, 2012). Sin embargo, la mayoría de estos hallazgos provienen de poblaciones diferentes al CCC, por lo que su extrapolación directa resulta incierta.

Esta situación pone en evidencia una brecha de conocimiento que limita la capacidad de diseñar protocolos adaptados a las particularidades del Caballo Criollo Colombiano, reduciendo la eficiencia y la rentabilidad de los programas de cría. La ausencia de información específica impide establecer con certeza el peso relativo de cada variable en el éxito de la transferencia embrionaria, lo que puede significar pérdidas económicas y una menor efectividad en la conservación genética de la raza.

Justificación

El Caballo Criollo Colombiano es patrimonio genético nacional, y su crianza representa un legado cultural e histórico para el país (Agronegocios, 2023), pero su reproducción enfrenta varios desafíos que comprometen la continuidad de líneas valiosas. Se han descrito parámetros reproductivos específicos de la raza, como la duración del ciclo estral y la relación entre el tamaño del cuerpo lúteo y los niveles de progesterona, información que ha servido de base para el manejo de programas reproductivos (Paredes-Cañón et al., 2012; Paredes-Cañón et al., 2013). Sin embargo, problemas como la endometritis, frecuente en yeguas criollas, afectan la fertilidad y limitan el aprovechamiento de ejemplares con alto valor genético (Gallego-Rodríguez et al., 2020; Paredes-Cañón et al., 2023).

En Colombia ya se han realizado programas de transferencia de embriones, con resultados positivos en la recuperación y establecimiento de gestaciones, lo que demuestra la utilidad de esta biotecnología para difundir la genética de la raza (Castaño et al., 2015; Solano-Moncada, 2021). A pesar de ello, aún existen factores que disminuyen la eficiencia reproductiva, tanto en hembras como en machos, ya que la calidad seminal y el manejo de la criopreservación también influyen directamente en los resultados (Restrepo et al., 2013; Restrepo-Betancur et al., 2014). Finalmente, estudios de diversidad genética han evidenciado riesgos de pérdida de variabilidad en el CCC, lo que refuerza la necesidad de implementar técnicas más avanzadas para preservar y multiplicar líneas de interés (Tarazona et al., 2007; Causil-Vargas et al., 2019).

En este escenario, las biotecnologías de la reproducción, y en particular la técnica de inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), representan una herramienta de gran potencial para optimizar los resultados y asegurar la proyección de la raza en el tiempo (Rader, Choi, & Hinrichs, 2016).

Aunque la ICSI ha demostrado ser efectiva en otras razas equinas, su aplicación en el CCC sigue siendo poco explorada. La mayor parte de los protocolos y estudios disponibles se

han desarrollado en razas de deporte o de uso comercial en otros contextos, además que ha sido realizada principalmente en otros países y lugares geográficos, lo que significa que muchos de los conocimientos actuales no se han probado bajo las condiciones propias de la raza y el manejo colombiano (Cuervo-Arango, Claes, & Stout, 2019). Este vacío de información dificulta que criadores y veterinarios cuenten con guías precisas para tomar decisiones reproductivas y para optimizar sus programas de cría.

La presente investigación cobra relevancia porque busca aportar información concreta sobre factores que pueden incidir en el éxito de la transferencia de embriones producidos mediante ICSI en el CCC, evaluando variables como el tipo de ovulación de la receptora, el mes de la transferencia, el estado de desarrollo del embrión y el andar del ejemplar donante. Estas variables, aunque en apariencia simples, tienen un impacto potencial en la tasa de preñez y, por ende, en la eficiencia económica de los programas reproductivos (Jacob et al., 2012; Tremoleda et al., 2003). Conocer cómo influyen en esta raza permitirá ajustar protocolos y mejorar la planificación de los ciclos reproductivos, lo cual es especialmente importante en un contexto donde cada cruce puede representar una inversión significativa de tiempo y recursos.

Desde el punto de vista práctico, los resultados de este estudio pueden beneficiar directamente a criadores y centros de reproducción, como Biohorse SAS, al ofrecer datos que respalden decisiones técnicas y de manejo. En lugar de basarse únicamente en la experiencia empírica o en información extrapolada de otras razas, contar con evidencias específicas del CCC permitirá trabajar con mayor precisión, reduciendo riesgos y aumentando las probabilidades de éxito en cada transferencia embrionaria. Esto no solo representa un avance en términos de eficiencia, sino también en la preservación de la diversidad genética y en la posibilidad de proyectar la raza hacia nuevos escenarios de competencia y exposición.

Este estudio se sustenta en la necesidad de fortalecer las herramientas técnicas y científicas disponibles para la reproducción de una raza que es símbolo nacional. La posibilidad de contar con protocolos adaptados y optimizados para el CCC no solo incrementa la competitividad del sector equino colombiano, sino que también contribuye a la preservación de un legado cultural que trasciende generaciones.

Objetivos

Objetivo general

Describir los factores que influyen en el éxito de la transferencia de embriones obtenidos mediante la técnica de ICSI en el CCC.

Objetivos específicos

- Describir las características fisiológicas y reproductivas óptimas de la yegua receptora para maximizar la tasa de implantación y éxito gestacional en la transferencia de embriones producidos por la técnica de ICSI en el CCC.
- Describir la importancia de la sincronización donante-receptora en la tasa de éxito de la transferencia de embriones ICSI, detallando el momento óptimo para la transferencia del embrión con base en el desarrollo del cuerpo lúteo y la preparación endometrial.
- Evaluar si alguno de los factores asociados al proceso de transferencia de embriones ICSI influye significativamente en la tasa de éxito de implantación embrionaria en el Caballo Criollo Colombiano.

Alcance y limitaciones

El presente estudio se enfoca en describir los factores que podrían influir en el éxito de la transferencia de embriones obtenidos mediante la técnica de inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) en el Caballo Criollo Colombiano (CCC). La investigación se centró principalmente en la evaluación de registros clínicos de yeguas receptoras que han participado en un programa de transferencia embrionaria en un centro especializado en biotecnología reproductiva equina ubicado en Cundinamarca, Colombia. Este enfoque permitió analizar variables como las características fisiológicas y reproductivas de las receptoras, la sincronización donante-receptora, el desarrollo del embrión al momento de la transferencia, el mes de la transferencia y el andar del embrión.

La temporalidad del estudio estuvo delimitada por la disponibilidad de los datos entre enero y abril del año 2025, periodo en el cual se recolectaron los casos disponibles que cumplieran con los criterios de inclusión previamente establecidos. El estudio no abordó directamente intervenciones experimentales ni manipulación de los tratamientos aplicados a las yeguas, sino que se limitó a la observación y análisis de datos secundarios ya registrados. Por tanto, se considera un estudio descriptivo, retrospectivo y observacional.

Aunque el objetivo principal era identificar relaciones entre ciertos factores y la tasa de implantación exitosa, el alcance del análisis estadístico se vio restringido debido al tamaño reducido de la muestra y la heterogeneidad en los datos disponibles. No se incluyeron variables externas como el manejo ambiental, la alimentación, la experiencia del equipo veterinario ni otros aspectos que también podrían influir en los resultados reproductivos.

Limitaciones

A pesar del interés y la importancia del tema abordado, esta investigación enfrentó diversas limitaciones que condicionaron sus resultados y su aplicabilidad. En primer lugar, el número limitado de yeguas receptoras disponibles para el análisis no permitió obtener una muestra representativa ni suficiente para establecer asociaciones estadísticamente significativas. Esto redujo la capacidad del estudio para generalizar sus hallazgos o identificar patrones claros entre las variables analizadas.

Otra limitación relevante fue el tiempo disponible para la recolección y análisis de los datos. El cronograma del trabajo de grado restringió el periodo de observación, dejando por fuera muchos casos que podrían haber enriquecido el estudio si se hubiera contado con un mayor margen temporal. Asimismo, el acceso a información completa y sistematizada fue otro obstáculo. Algunos registros clínicos presentaban vacíos o inconsistencias, lo cual dificultó la comparación uniforme de los casos y obligó a excluir ciertos datos del análisis final.

Estas limitaciones no invalidan el estudio, pero sí deben ser tenidas en cuenta al interpretar los resultados. La ausencia de asociaciones estadísticamente significativas no debe entenderse como prueba de que no existe relación entre los factores estudiados y el éxito de la transferencia embrionaria, sino como una indicación de que se requieren más investigaciones con mayores recursos, mejor acceso a datos y una muestra más amplia para poder llegar a conclusiones más sólidas y generalizables.

Marco teórico

1. Evolución y relevancia de la ICSI en la biotecnología equina

La reproducción asistida en caballos ha avanzado notablemente en las últimas décadas. Técnicas como el cultivo *in vitro*, la criopreservación embrionaria y, especialmente, la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) han revolucionado los programas de cría, al posibilitar la fecundación de ovocitos en situaciones en las que el semen o la fertilidad de la yegua están comprometidos (Cuervo-Arango et al., 2019; *La evolución de IVEP en caballos*, 2020).

A diferencia de otras especies domésticas, el caballo presenta una baja eficiencia en la fecundación *in vitro* (FIV) convencional debido a las particularidades estructurales y funcionales de sus ovocitos, incluyendo su morfología, expresión génica y sensibilidad a la criopreservación. Esto ha llevado a que la ICSI se posicione como la principal técnica viable para obtener embriones, con tasas de producción de blastocistos que varían entre el 4 % y el 40 %, dependiendo del laboratorio (Reyes-Perea et al., 2023).

La ICSI es un procedimiento reproductivo avanzado en el que se inserta un solo espermatozoide en el citoplasma de un ovocito que ha sido extraído de un folículo ovárico y madurado *in vitro* (Figura 19-3). Este procedimiento se ha utilizado clínicamente para obtener gestaciones en:

1. Yeguas viejas con anomalías reproductivas que impiden una reproducción normal *in vivo* o el desarrollo embrionario.
2. Yeguas para las que el número de espermatozoides móviles disponibles para la inseminación es muy limitado.
3. Ovocitos extraídos de yeguas después de la eutanasia (McCue y Squires, 2015).

Los embriones equinos producidos mediante ICSI se transfieren en la etapa temprana de blastocisto, similar a un embrión producido *in vivo* el día 6,5, y se benefician de una yegua receptora que haya ovulado de tres a cinco días antes de la transferencia. Los embriones congelados-descongelados y vitrificados-descongelados pueden requerir una ventana de

sincronía aún más estrecha con las receptoras para obtener mejores resultados. El día de formación del blastocisto es un indicador útil de la calidad embrionaria y del potencial para lograr una gestación exitosa; la pérdida embrionaria temprana es mayor en los blastocistos formados los días 9 y 10 después de la ICSI que en los formados antes (Foss, 2023).

Según un estudio retrospectivo, las tasas de desarrollo embrionario (hasta blastocisto) tras OPU-ICSI han superado con frecuencia el 20 %, y las tasas de preñez post-transferencia sobrepasan el 60 %, haciendo que la ICSI sea comparable, en cierto sentido, a la fertilización *in vivo* en términos de eficiencia reproductiva (*The development of in vitro embryo production in the horse*, 2020). Otros autores coinciden en que la ICSI ha convertido la producción embrionaria equina en una estrategia viable y clínicamente repetible, con tasas de más de un blastocisto por ovocito aspirado y un éxito reproductivo que supera ampliamente a los métodos tradicionales (*Clinical application of in vitro embryo production in the horse*, 2020).

2. Diferencias entre embriones ICSI y embriones in vivo

Los embriones equinos obtenidos mediante ICSI difieren de sus contrapartes *in vivo* tanto morfológica como metabólicamente. Si bien las condiciones de cultivo *in vitro* pueden ser exitosas para la producción de embriones viables, estas no son equivalentes a las que se presentan *in utero* (útero u oviducto), lo que genera múltiples diferencias.

Una de las diferencias morfológicas más notorias en embriones ICSI es la ausencia del desarrollo de la cápsula embrionaria. Esta cápsula, una glicoproteína similar a la mucina, se produce normalmente a partir de secreciones de las células del trofoblasto y se forma entre ellas y la zona pelúcida. Se trata de una estructura muy resistente y elástica que, presumiblemente, proporciona protección al blastocisto en desarrollo después del desprendimiento de la zona pelúcida. En los embriones ICSI cultivados *in vitro*, la cápsula no se forma; sin embargo, sí se desarrolla una vez que los embriones se transfieren a un útero receptor. Debido a la ruptura inducida por la inyección en la zona pelúcida, existe un breve intervalo tras la transferencia durante el cual los embriones ICSI pueden estar expuestos directamente al sistema inmunitario uterino y, por lo tanto, a procesos inflamatorios (Foss, 2023).

La zona pelúcida de los embriones ICSI tiende a endurecerse durante el cultivo *in vitro*. Este endurecimiento influye cuando el blastocisto temprano comienza a expandirse, ya que la zona limita su expansión. En condiciones *in vivo*, la zona pelúcida se adelgaza a medida que el

blastocisto crece y, posteriormente, tras la formación de la cápsula, se adelgaza lo suficiente como para desprenderse. En cambio, durante el cultivo *in vitro*, aunque la zona también se adelgaza, con frecuencia la capa de trofoblasto se hernia a través del orificio generado por la ICSI. Este fenómeno expone aún más al blastocisto, dejándolo desprotegido frente al ambiente uterino. La hernia del trofoblasto y del blastocele podría incluso predisponer a la gemelación monocigótica, originando un blastocisto separado fuera de la zona pelúcida. (Foss, 2023).

Un embrión ICSI, al desarrollarse en cultivo y no en un oviducto, está sometido a estrés fisiológico durante todo el periodo de cultivo. La ausencia de las condiciones que proporciona el epitelio oviductal, así como de diversas citocinas y compuestos beneficiosos, obliga al embrión a adaptarse a un ambiente artificial, lo que probablemente genera un estrés adicional (Foss, 2023).

Los problemas en la segregación cromosómica son más comunes en el desarrollo *in vitro*, lo que puede dar lugar a embriones con anomalías en la ploidía, es decir, con un número excesivo o insuficiente de cromosomas en las células hijas. Todos estos factores contribuyen a que, según el conocimiento actual, los embriones ICSI tengan, en promedio, menos probabilidades de lograr y mantener una gestación viable a término que sus equivalentes *in vivo* (Foss, 2023).

Otra característica distintiva de los embriones generados por ICSI es su desarrollo más lento y con menor compactación celular. Esto incluye una formación tardía o incluso ausente de la cápsula, lo que los hace más sensibles a las variaciones en el entorno uterino de la receptora (Cuervo-Arango et al., 2019).

Un estudio comparativo entre embriones IVP (*in vitro*) y embriones generados de manera tradicional (*in vivo*) mostró que los IVP presentan una ventana de sincronización uterina mucho más estrecha. En estos, el momento óptimo para la transferencia se reduce al día 4 posovulación de la receptora, con una probabilidad de preñez del 69 %, frente a menos del 42 % si la transferencia se realiza en los días 5 o 6. En cambio, los embriones *in vivo* toleran una ventana más amplia (días 4–9) sin pérdida significativa de eficiencia reproductiva (Cuervo-Arango et al., 2019).

Asimismo, mientras que en embriones *in vivo* un estro prolongado favorece mejores tasas de implantación, este efecto no se mantiene en los embriones IVP, lo que resalta la necesidad de una sincronización mucho más precisa para estos últimos (Cuervo-Arango et al., 2019).

3. Fisiología reproductiva de la yegua

Las yeguas son poliéstricas estacionales, presentando ciclos estrales repetidos durante la época reproductiva. Se distinguen fases de anestro profundo y transición, según la actividad folicular presente. El anestro profundo se caracteriza por un desarrollo folicular mínimo (folículos < 20 mm), con comportamiento que puede variar de receptivo a no receptivo, debido a la ausencia de influencia significativa de hormonas esteroides ováricas. (McCue & Squires, 2015).

El aumento progresivo del fotoperiodo en primavera estimula la función ovárica mediante cambios en la producción de melatonina por la glándula pineal. Menos horas de oscuridad reducen la secreción de melatonina, lo que incrementa la liberación de GnRH y, a su vez, de gonadotropinas hipofisarias, estimulando el desarrollo folicular. La transición comienza cuando el primer folículo de la temporada alcanza entre 20 y 25 mm de diámetro. Durante esta fase, pueden observarse varias ondas de crecimiento y regresión folicular, con ecografía revelando grupos de folículos pequeños y medianos en forma de racimo. La transición puede durar entre 50 y 70 días antes de la primera ovulación, tras la cual la yegua cicla regularmente. (McCue & Squires, 2015).

Durante la temporada reproductiva, las yeguas ovulan aproximadamente cada 21 días. El ciclo estral se divide en estro: 5–7 días de receptividad sexual, inducidos por altos niveles de estradiol y ausencia de progesterona y en diestro: 14–16 días de rechazo sexual, controlado por la progesterona producida por el cuerpo lúteo. (McCue & Squires, 2015).

El mecanismo de selección folicular limita el número de ovulaciones a una por ciclo, mediante la interacción entre gonadotropinas y hormonas ováricas. La onda folicular principal emerge 7–8 días después de la ovulación, con una fase de crecimiento común de 6–7 días. La desviación folicular ocurre cuando un folículo continúa su desarrollo como dominante (22–25 mm), mientras los demás retroceden, gracias a su mayor sensibilidad a FSH y LH y al aumento de receptores de gonadotropina inducido por estradiol intrafolicular. (McCue & Squires, 2015).

Tras la ovulación, el cuerpo lúteo produce progesterona, que inhibe el estro, modifica las secreciones endometriales, cierra el cuello uterino y regula otros procesos fisiológicos. La concentración de progesterona es baja en la ovulación (<0,5 ng/ml), sube por encima de 1,0 ng/ml en 1–2 días y alcanza su máximo hacia el día 5. En yeguas no gestantes, la secreción

pulsátil de prostaglandinas provoca la luteólisis alrededor de los días 12–14, permitiendo un nuevo ciclo. (McCue & Squires, 2015).

Una característica única del embrión equino es la formación de la cápsula embrionaria, glicoproteica y acelular, secretada por las células trofoblásticas entre los días 5 y 6 postovulación. Inicialmente se ubica entre la capa de trofoblasto y la zona pelúcida, que se adelgaza y se desprende con el crecimiento embrionario. La cápsula protege físicamente al embrión y facilita su migración uterina, necesaria para el reconocimiento materno del embarazo. No se forma en embriones producidos *in vitro*. (McCue & Squires, 2015).

Las contracciones de la musculatura uterina hacen que el embrión equino se transporte por el útero varias veces al día. Durante esta fase de movilidad, el embrión envía una señal al endometrio indicando que hay un embarazo. Se ha identificado un factor de reconocimiento de la gestación en bovinos, ovinos, cerdos y otras especies, pero la señal aún no se ha identificado en la yegua. Esta interacción embrión-útero, denominada reconocimiento materno de la gestación, es un componente clave para el mantenimiento de la gestación en la yegua. La incapacidad del embrión para producir una señal suficiente o la incapacidad del útero para reconocer la señal provocará la liberación de prostaglandinas (PGF-1) del endometrio. Las prostaglandinas viajan a través del torrente sanguíneo y causan la regresión del cuerpo lúteo. La regresión del CL resulta en el cese de la producción de progesterona y la pérdida de cualquier embarazo que pueda estar presente. El período para que la madre reconozca el embarazo en la yegua es aproximadamente de 12 a 16 días después de la ovulación. La migración embrionaria cesa aproximadamente de 16 a 17 días después de la ovulación y el embrión se fija en su posición en la base de un cuerno uterino. (McCue y Squires, 2015).

4. La importancia de la sincronización donante-receptora en la transferencia de embriones ICSI

La sincronización entre el desarrollo del embrión y el estado fisiológico del útero de la yegua receptora es un factor determinante en el éxito de los programas de transferencia embrionaria, particularmente cuando se trata de embriones producidos *in vitro* mediante la técnica de inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). A diferencia de los embriones obtenidos *in vivo*, los embriones ICSI presentan características fisiológicas y

cronológicas particulares que requieren una ventana de implantación mucho más estrecha y precisa.(Cuervo-Arango et al., 2019).

La progesterona secretada por el cuerpo lúteo tras la ovulación es uno de los principales factores responsables del establecimiento de la receptividad endometrial para el embrión preimplantatorio, mediante alteraciones complejas en la expresión de genes implicados en la secreción del histótrofo. Se ha demostrado que la duración exacta de la exposición a la progesterona desempeña un papel fundamental en la preparación endometrial y la receptividad para el desarrollo y la supervivencia del embrión (Cuervo-Arango et al., 2019).

Uno de los hallazgos más relevantes del estudio de Cuervo-Arango et al. (2019) es que los embriones equinos obtenidos por ICSI deben ser transferidos en un marco muy específico del ciclo de la yegua receptora, particularmente en el día 4 posovulación. Esta sincronización precisa se debe a que estos embriones, al haber sido cultivados *in vitro*, no han alcanzado el mismo grado de desarrollo que los embriones recolectados directamente del tracto reproductivo (*in vivo*). Como resultado, son más vulnerables a ambientes uterinos que no estén perfectamente preparados para su implantación y supervivencia.

Según Cuervo-Arango et al. (2019), los embriones IVP toleraron solo una ventana estrecha de “sincronía” de la yegua receptora, y la transferencia el día 4 después de la ovulación resultó en una mayor probabilidad de embarazo continuo (69 %) que la transferencia los días 3, 5 o 6 (53,2 %, 41,3 % y 23,1 %, respectivamente).

Este fenómeno se relaciona directamente con los cambios hormonales que ocurren durante el ciclo estral de la yegua receptora, en especial con la producción de progesterona por parte del cuerpo lúteo. Esta hormona es responsable de transformar el endometrio en un entorno receptivo, favoreciendo la nutrición y fijación del embrión. De acuerdo con Silva, Samper y Carnevale (2019), yeguas con un solo cuerpo lúteo y aquellas transferidas fuera del momento óptimo presentan tasas de preñez significativamente más bajas, lo cual evidencia la importancia del estado hormonal para la recepción del embrión ICSI.

Un aspecto menos discutido, pero fundamental, es la duración y calidad del estro previo en la yegua receptora. En los embriones *in vivo*, se ha comprobado que una fase estrogénica más prolongada durante el estro previo favorece la maduración del endometrio, aumentando así la tasa de implantación. Sin embargo, en el caso de embriones ICSI, Cuervo-Arango et al. (2019) demostraron que este beneficio no se mantiene, debido a que estos embriones no están

completamente desarrollados en el momento de la transferencia. Esto sugiere que los embriones ICSI necesitan un ambiente uterino que se encuentre ligeramente más adelantado fisiológicamente en comparación con el estadio de desarrollo del embrión, lo que reafirma la necesidad de una sincronización ultra precisa (Cuervo-Arango et al., 2019).

En la práctica clínica, esto se traduce en la necesidad de una monitorización hormonal constante y del uso de tecnologías de control reproductivo (como ecografía, dosificación de progesterona y uso de inductores de ovulación) para garantizar que el útero de la receptora se encuentre exactamente en el punto de receptividad requerido. Incluso se ha propuesto el uso estratégico de criopreservación de embriones como método para mejorar la sincronización, ya que permite programar la transferencia en el momento óptimo del ciclo de la receptora (Foss, 2022).

Por otro lado, el estudio de Stout, Broeckx y Claes (2024) respalda estos hallazgos al indicar que el mayor éxito en las tasas de blastocistos viables y preñez se relaciona directamente con un adecuado emparejamiento entre el desarrollo embrionario y la fase del ciclo estral de la receptora. En su estudio, incluso pequeñas variaciones de uno o dos días entre la ovulación de la donante y la receptora resultaron en una caída de hasta el 25 % en las tasas de gestación clínica, lo cual refleja lo crítica que es esta sincronización, especialmente en el contexto del Caballo Criollo Colombiano, donde la variabilidad ambiental y genética es aún mayor.

En resumen, la sincronización donante-receptora no es solo una condición técnica más del procedimiento, sino un pilar fundamental del éxito de la transferencia de embriones por ICSI. Esta sincronización debe contemplar tanto el estadio fisiológico del embrión como el estado hormonal y endometrial de la receptora, lo que exige una planificación meticulosa, uso de tecnologías avanzadas y un conocimiento profundo de la fisiología reproductiva equina. El no lograr este emparejamiento en tiempo y calidad puede resultar en la pérdida del embrión y del ciclo reproductivo completo, incrementando los costos y reduciendo la eficiencia del programa de cría (Cuervo-Arango et al., 2019; Silva et al., 2019; Foss, 2022; Stout et al., 2024).

A pesar del creciente número de programas que ofrecen PIV equino, existe información limitada sobre los factores de la receptora que influyen en la probabilidad de establecer y mantener la gestación tras la transferencia de embriones PIV. En este sentido, se espera que los embriones PIV tengan requisitos diferentes a los *in vivo* derivados (lavados embrionarios convencionales) en términos de su entorno uterino “ideal”, principalmente porque se transfieren

en una etapa de desarrollo menos avanzada (es decir, menos células; Tremoleda et al., 2003) y “comportarse como un embrión de día 5-6” (Claes et al., 2019), cuando aún no han desarrollado una cápsula confluyente (Tremoleda et al., 2003; Choi et al., 2009) y muestran una regulación positiva retardada de genes importantes para el desarrollo (Smits et al., 2011).

La ventana más estrecha de sincronía uterina aceptable para embriones de caballo IVP, en comparación con sus contrapartes *in vivo* derivadas, puede reflejar la menor calidad de los embriones IVP (por ejemplo, un mayor porcentaje de células apoptóticas; Tremoleda et al., 2003) y una capacidad reducida para ajustarse o satisfacer las demandas metabólicas de adaptarse a un entorno subóptimo (por ejemplo, debido a menos mitocondrias; Hendriks et al., 2015, o a una expresión reducida de genes importantes para el desarrollo; Smits et al., 2011).

Alternativamente, es posible que la concentración de progesterona a la que se expone el útero al diestro temprano pueda tener un efecto en la expresión de genes o proteínas necesarias para el mantenimiento del embrión (es decir, la diferencia en los efectos de preparación de la progesterona es más significativa entre los días 3 y 4 después de la ovulación que entre los días 6 y 8). Además, se sabe que la duración exacta de la exposición endometrial a la progesterona afecta críticamente la receptividad para el desarrollo y la supervivencia del embrión en los rumiantes (Spencer et al., 2016).

Implementación de Estrógenos (E2) y Progesterona (P4): El uso de estrógenos y progesterona en protocolos de TE en equinos, en su mayoría van dirigidos a yeguas receptoras anovulatorias es decir que no tienen un proceso de ovulación cíclico, con el fin de simular hormonalmente el estro y estimular los receptores uterinos para la progesterona, buscando imitar la fase estral de una yegua cíclica. El uso de 2,5 mg de benzoato de estradiol en yeguas receptoras (entre los días 1-3 de ovulación de la yegua donante), acompañado de 33 mg de progesterona (altrenogest – entre el día 4 a 70 post ovulación), generó respuestas positivas a de preñez en 28 de 40 yeguas representado en un 71%. De igual modo, se obtuvieron tasas de preñez similares con algunas variaciones al protocolo como: -1). Aplicando a la yegua receptora 1 mg/Subcutáneo (SC) de 17 β Estradiol el día de ovulación de la donante y 300 mg / SC de P4 (desde el día 0 hasta el día 35 post transferencia. -2). Aplicando a la receptora 1mg SC de 17 β Estradiol y 300 mg P4 desde el día 0 hasta el día 20 de ovulación de la donante, - 3). Aplicando a la yegua receptora 1 mg/SC de 17 β -Estradiol el día de ovulación de la donante y P4 0,044 mg/kg de peso vivo cada 24 horas desde el día 0 hasta el día 35 post ovulación de la

donante, con tasas de preñez de 70, 80, y 70% respectivamente (Basto Ramírez & González Noguera, s.f.).

Otra forma de implementar el benzoato de estradiol es aplicar en forma descendente a la yegua receptora desde el tercer día hasta un día antes de la ovulación de la donadora (5mg, 3mg, 2mg respectivamente) y 1500 mg de progesterona con intervalos de 7 días desde el día de la TE hasta el día 120 post transferencia, donde se demuestra la realización de TE en yeguas anovulatorias con tasas de preñez de 69,6% (Basto Ramírez & González Noguera, s.f.).

Uso de Prostaglandina F₂ α (PgF₂ α), Gonadotropina Coriónica Humana (hCG) y Benzoato de Estradiol: La sincronización de la ovulación en programas de TE es uno de los factores más influyentes con relación a la tasa de fertilidad, la implementación de PgF₂ α es uno de los métodos más usados y sencillos al causar lisis del cuerpo lúteo, el resultado en un programa de TE se verá influenciado positivamente si se usa en compañía otra hormona influyente del ciclo estral. Usando 10 mg de PgF₂ α , más 10mg de benzoato de estradiol en yeguas receptoras ovuladas en un periodo no mayor a 5 días de antelación respecto a la donante se obtienen tasas de preñez cercanas al 70% . Caso diferente es la aplicación 3mg de PgF₂ α IM y 2.000 UI IV de hCG en yeguas receptoras el día de ovulación de la donante, al presentar tasas de preñez de 67,8% . Sin embargo, otro protocolo utilizó 30 mg IM de PgF₂ α y 1.500 hCG IV obteniendo una tasa de fertilidad de 40.5% ya que el tamaño de los folículos al momento de la aplicación del protocolo no superaba los 22 mm (Basto Ramírez & González Noguera, s.f.).

Uso de Análogos de la GnRH (Deslorelin): Los análogos de la GnRH conducen a la liberación de las gonadotropinas hipofisarias, induciendo la ovulación y estimulando el crecimiento folicular, al ser análogo su degradación es más lenta en comparación a la hormona endógena. Si se aplica a una receptora con un folículo mayor a 35mm 1mg/IM de Deslorelin y en el día de la transferencia 1500mg/IM de P4 más 1,5mg/IM de meloxicam presenta tasas de fertilidad de 75% . Por otro lado, al aplicar de igual forma 1mg/IM de deslorelin a la yegua donadora y 1mg/Kg IV de Flunixin más 1500mg/IM de P4 a la yegua receptora el día de la transferencia se obtiene una tasa de fertilidad de 65,22. La aplicación de fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINES) controla la liberación de PgF₂ α producida por la respuesta inflamatoria generada por la TE, en cuanto al cambio de la tasa de fertilidad al cambiar de AINES se dice que está dado por la farmacocinética de cada uno de los AINES

adicionalmente por el estrés manejado en el momento de la aplicación de cada uno (Basto Ramírez & González Noguera, s.f.) .

Protocolos de transferencia de embriones estudiados con sus respectivas tasas de preñez, vía de administración, dosis y día.

Protocolo	Dosis/ Vía	Día Aplicación*	Yegua	Tasa de Fertilidad	Referencia
PGF2 α	30mg / IM	0	R	40,5%	<i>Kuhl et al 2017 [41]</i>
HCG	1.500 UI/ IV	0	R		
Deslorelin	1mg/IM	-2	D		<i>Cardoso et al 2018 [45]</i>
P4	1500 mg/IM	8	R	65,22%	
Flunixin	1mg/kg / IV	8	R		
PGF2 α	3mg/IM		R	67,8%	<i>Panzani et al 2016 [40]</i>
HCG	2.000 UI/IV		R		
Benzoato de estradiol	5 mg, 3mg, 2mg /IM	-3,-2, -1	R	69.6%	<i>Boelho et al 2015 [37]</i>
P4	1.500	q7-120	R		
PGF2 α	10mg/IM	-4,-3	R	70%	<i>Oliveira et al 2018 [39]</i>
Benzoato de estradiol	10mg/IM	-4,-3	R		
Benzoato de estradiol	2,5mg/IM	2	R	71%	<i>Silva et al 2014 [36]</i>
Progesterona	33mg/IM	4-70	R		
Deslorelin	1mg/IM	-2	D		<i>Pinto et al 2017 [44]</i>
P4	1500mg/IM	7	R	75%	
meloxican	1,5gr/IM	7	R		
17B-Estradiol	1mg/SC	0	R	80%	<i>Vallejo et al 2017 [35]</i>
Progesterona	300mg/IM	0-20	R		

(R) Yegua Receptora, (D) Yegua Donante, *Los días de aplicación se basa en el día de ovulación de la donante (Día 0).

(Basto Ramírez & González Noguera, s.f.)

5. Clasificación de embriones ICSI

Normalmente, los blastocistos de los días 6 y 7 se clasifican como Grado 1, los del día 8 como Grado 1.5, los del día 9 como Grado 2 y los del día 10 como Grado 2.5. La historia clínica

registrada durante el cultivo también puede utilizarse para ajustar las calificaciones. Generalmente, la formación del blastocisto ocurre dos días después de la compactación de la mórula; si este período es más prolongado, el embrión recibirá una calificación inferior (Foss, 2023).

Para evaluar la calidad de un embrión es esencial comprender sus características morfológicas y etapas de desarrollo. Tras la fecundación, una serie de divisiones celulares transforma el cigoto unicelular en embriones de 2, 4 y 8 células. Cada célula embrionaria, denominada blastómero, se encuentra dentro de la zona pelúcida, una capa acelular externa. El embrión alcanza la etapa de mórula cuando posee 16 o más blastómeros. En una mórula compacta puede existir un espacio perivitelino entre los blastómeros y la zona pelúcida. (McCue y Squires, 2015).

A medida que progresa el desarrollo embrionario, la mórula se transforma en blastocisto mediante divisiones celulares adicionales y la formación de una pequeña cavidad llena de líquido, denominada blastocele, en el centro del embrión. El blastocisto está compuesto por un borde externo de células trofoblásticas y una masa celular interna (MCI) incrustada en la pared trofoblástica. La capa trofoblástica dará origen a la placenta, mientras que la MCI formará el embrión propiamente dicho. En condiciones normales, un embrión equino se encuentra en la etapa de mórula o blastocisto temprano cuando llega al útero. En el caso de embriones en maduración *in vivo*, las células trofoblásticas producen una capa de glucoproteína acelular denominada cápsula, situada entre la capa de trofoblasto y la zona pelúcida externa. (McCue y Squires, 2015).

Estructuras normales asociadas al embrión equino.

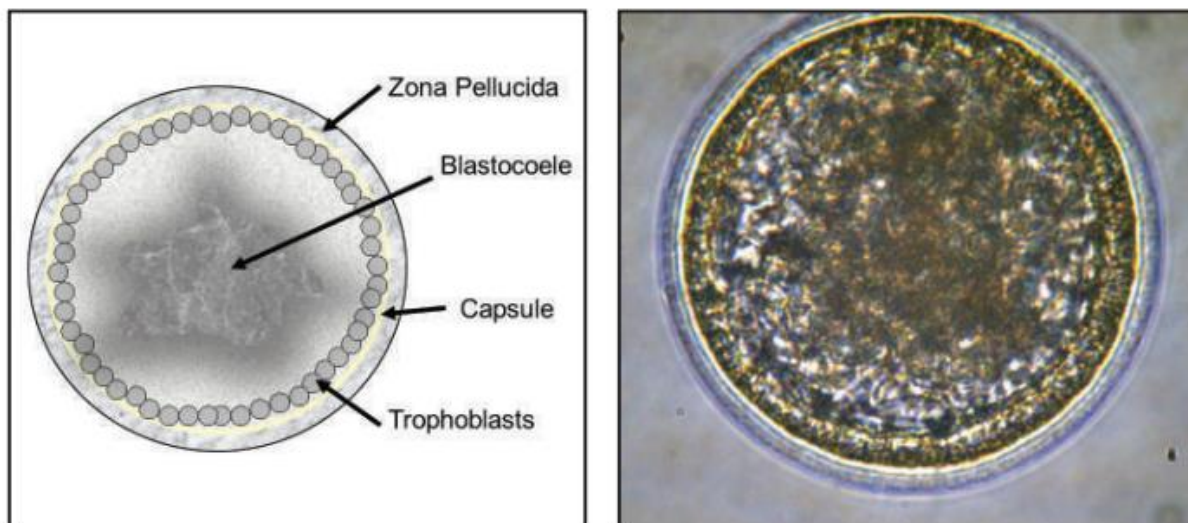
Estructura embrionaria	Descripción
Blastocele	Cavidad llena de líquido rodeada por una sola capa de células del trofoblasto del embrión en etapa de blastocisto.
Blastómero	Una de las células que componen el embrión temprano
Cápsula	Envoltura de glucoproteína acelular producida por células del trofoblasto; ubicada inicialmente entre el trofotodermo y la zona pelúcida; se convierte en la capa protectora externa después de que se desprende la zona; exclusiva del caballo.
Masa celular interna	Conjunto de blastómeros que se diferenciarán para formar el embrión propiamente dicho y, finalmente, el feto.
espacio perivitelino	Espacio potencial entre los blastómeros de un embrión en etapa de mórula o las células del trofoblasto de un embrión en etapa de blastocisto y la zona pelúcida
Trofoblasto	Capa de tejido ectodérmico extraembrionario que se diferencia durante la formación del embrión en etapa de blastocisto y rodea la cavidad del blastocele; finalmente forma el corion y el amnios.
Zona pelúcida	Capa de glicoproteína no celular que rodea al ovocito y al embrión temprano; eventualmente se adelgaza y se desprende a medida que el embrión equino se expande.

(McCue y Squires, 2015).

Embriones en etapa temprana de blastocisto

Estos presentan un diámetro de 150 a 250 μm , aproximadamente el mismo que una mórula, pero con un mayor número de células más pequeñas y una zona pelúcida gruesa (Figura 9-3). La secreción de líquido por los blastómeros conduce a la formación del blastocele, que constituye el rasgo distintivo de esta etapa. Al microscopio, el blastocele suele apreciarse ligeramente más oscuro que las células circundantes, con bordes poco definidos. El espacio perivitelino, en esta etapa, es mínimo o inexistente (McCue y Squires, 2015).

Embrión equino en estadio temprano de blastocisto (Grado 1). Obsérvese la zona pelúcida más delgada, la cápsula y la pequeña cavidad del blastocele.



(McCue y Squires, 2015).

Asignación de calificaciones de embriones según un sistema de 4 puntos. Modificado del Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS).

Calificación	Comentario	Descripción
1	Excelente	No se observaron anomalías significativas; forma simétrica y esférica; células de tamaño, color y textura uniformes; tamaño y etapa de desarrollo apropiados para la edad posterior a la ovulación.
2	Bien	Imperfecciones menores, como algunos blastómeros extruidos; ligeras irregularidades en forma, tamaño, color o textura; separación limitada entre la capa de trofoblasto y la zona pelúcida o cápsula
3	Pobre	Nivel moderado de imperfecciones, como un mayor porcentaje de blastómeros extruidos o degenerados; colapso parcial del blastocoele; o contracción moderada del trofoblasto de la zona pelúcida o la cápsula
4	Degenerar o Muerto	Problemas graves que se identifican fácilmente, como un alto porcentaje de blastómeros extruidos, colapso completo del blastocoele, ruptura de la zona pelúcida o degeneración completa y muerte embrionaria.

(McCue y Squires, 2015).

6. Técnica de transferencia embrionaria

La transferencia de embriones mediante ICSI suele realizarse en la etapa temprana del blastocisto, cuando este comienza a expandirse, pero antes de que se produzca una expansión

significativa. Esto permite la transferencia de un embrión en etapa uterina sin células trofoblásticas herniadas a través de la brecha en la zona pelúcida. Actualmente, el estado de desarrollo del embrión mediante ICSI es aproximadamente equivalente al de un embrión de 6,5 días *in vivo*, aunque el embrión puede encontrarse entre 6 y 10 días después de la fecundación mediante ICSI (Foss, 2023).

El día de desarrollo, que representa el número de días tras la ICSI en que se forma el blastocisto, tiene un efecto claro en los resultados de la transferencia embrionaria. En promedio, cuanto más rápido un embrión alcanza la etapa temprana de blastocisto, más sano es y más probable es que produzca un embarazo viable. Datos de un grupo de 926 transferencias realizadas en yeguas receptoras (Tabla 2) muestran una tendencia consistente a la disminución de la tasa de embarazo con el aumento de los días de desarrollo; sin embargo, la diferencia no fue significativa hasta los días 9 y 10 (Foss, 2023).

Tabla 2. Embarazo según el día del desarrollo del blastocisto

Día	Embarazada/transferida	Embarazada (%)*
6	36/39	92.3 _a
7	288/348	82.7 _a
8	232/278	83.5 _a
9	147/185	79.5 _{a,b}
10	52/76	68.4 _b
Total	755/926	81.5

(Foss, 2023).

Procedimiento de transferencia

La cola de la yegua receptora se envuelve y se aparta de la zona perineal. El perineo se lava dos o tres veces con agua tibia y jabón no residual, se enjuaga con abundante agua y se seca con toallas de papel. Posteriormente, se limpia el vestíbulo con una torunda de algodón o toallas húmedas para evitar la introducción de material orgánico al útero (McCue y Squires, 2015).

La punta del instrumento de transferencia, protegida por una camisola estéril y lubricada, se introduce en el tracto reproductivo y se dirige hacia la cúpula vaginal. Es fundamental minimizar la manipulación del cérvix: debe evitarse insertar un dedo para guiar el instrumento, ya que esto puede liberar prostaglandinas o transferir bacterias, reduciendo la tasa de preñez entre un 10 % y un 15 %. En su lugar, se rodea externamente el cérvix para dirigir la punta del instrumento hacia el orificio cervical. La camisola protectora se retira parcialmente para permitir que la punta del dispositivo (pistola Cassou o pipeta) penetre en el lumen cervical y avance suavemente hasta el cuerpo uterino. El embrión se deposita de forma delicada en el centro de la luz uterina, lo que incrementa la probabilidad de éxito (McCue y Squires, 2015).

Verificación postransferencia

En ocasiones, los embriones pueden quedar retenidos en la punta del instrumento, como se observó en el 0,6 % de 820 procedimientos en la Universidad Estatal de Colorado. Por ello, se recomienda enjuagar y examinar la punta de la vaina bajo el microscopio para confirmar la liberación del embrión. En casos de retención, el embrión puede cargarse nuevamente y retransferirse, logrando preñez en algunos casos. La revisión de la vaina es clave para evitar pérdidas accidentales. Respecto al manejo postransferencia es importante reducir el estrés de la receptora y así optimizar las tasas de preñez. Siempre que sea posible, debe permanecer en su grupo habitual para evitar estrés social (McCue y Squires, 2015).

Suplementación con progesterona

La decisión de suplementar progesterona depende del valor del embrión, el riesgo de insuficiencia lútea y la experiencia clínica. Los métodos más utilizados son:

- Altrenogest (0,044 mg/kg, vía oral, una vez al día), única progestina aprobada para caballos. Permite medir progesterona endógena y el retorno al ciclo ocurre inmediatamente al suspender el tratamiento.
- Progesterona en aceite (200 mg, intramuscular diaria), eficaz pero con riesgo de inflamación local.
- Progesterona de acción prolongada (1500 mg, intramuscular semanal), con menor frecuencia de administración, pero posible retraso en el retorno al estro.

En receptoras que están ciclando normal, la suplementación suele iniciarse al momento de la transferencia y suspenderse si no se detecta preñez en la ecografía del día 16. En caso de preñez, se recomienda continuar el tratamiento más allá del reconocimiento materno (días 12–16 posovulación), especialmente si el embrión transferido era pequeño o estaba en etapa temprana. La suplementación puede interrumpirse entre los días 45 y 70 si se confirman cuerpos lúteos secundarios o alrededor de los 120 días, cuando la placenta produce suficiente progesterona para mantener la gestación (McCue y Squires, 2015).

7. Calidad fisiológica y reproductiva de la yegua receptora

El éxito de la transferencia embrionaria, especialmente con embriones obtenidos por ICSI, depende en gran medida de la calidad fisiológica y reproductiva de la yegua receptora. A diferencia de las técnicas convencionales, la transferencia de embriones IVP (*in vitro produced*) exige un ambiente uterino altamente especializado, ya que estos embriones son más vulnerables por su menor número de células, la ausencia de cápsula embrionaria y su desarrollo más lento en comparación con los embriones *in vivo* (Cuervo-Arango et al., 2019; Foss, 2022).

Uno de los principales factores que determinan la calidad reproductiva de la receptora es la madurez funcional del endometrio. Un endometrio receptivo es aquel que ha recibido una adecuada exposición estrogénica durante el estro y posteriormente ha sido modulado por la progesterona producida por el cuerpo lúteo (CL) tras la ovulación. Este cambio hormonal permite al útero secretar nutrientes, moléculas inmunomoduladoras y factores de crecimiento esenciales para la supervivencia y adhesión del embrión (Silva et al., 2019).

La calidad del CL y el momento del ciclo postovulatorio son indicadores clave de éxito. Yeguas con un solo CL bien desarrollado presentan tasas de preñez significativamente más altas que aquellas con CL pequeños, regresivos o con asincronía hormonal, que muestran mayores tasas de pérdida embrionaria temprana. Incluso, yeguas con dos cuerpos lúteos funcionales pueden tener mejores resultados debido al incremento en los niveles circulantes de progesterona (Silva et al., 2019).

La duración y calidad del estro previo también son relevantes. Un estro más largo antes de la ovulación permite una mejor maduración del endometrio por acción estrogénica, favoreciendo la posterior acción de la progesterona. Aunque este beneficio es más evidente en

transferencias con embriones *in vivo*, también se considera importante en el manejo general de receptoras para embriones ICSI (Cuervo-Arango et al., 2019).

El estado uterino general, evaluado por ecografía, análisis endometrial y el historial reproductivo, es otro factor determinante. Patologías como la fibrosis endometrial, quistes uterinos o antecedentes de infecciones recurrentes reducen la receptividad uterina, comprometiendo la implantación embrionaria (Foss, 2022).

La condición corporal y el estado nutricional de la receptora influyen en su perfil hormonal y en la regularidad de su ciclo reproductivo. Tanto un índice corporal muy bajo como uno muy alto pueden afectar negativamente la receptividad uterina (Stout et al., 2024).

En cuanto al manejo hormonal, la administración de progesterona o prostaglandinas permite sincronizar el ciclo de la receptora con el desarrollo embrionario. Sin embargo, esta sincronización debe ser controlada, ya que una exposición demasiado corta o prolongada a la progesterona puede afectar la receptividad. Algunos estudios sugieren adelantar artificialmente el estado endometrial de la receptora para optimizar la transferencia de embriones IVP (Cuervo-Arango et al., 2019).

El historial reproductivo también es importante: yeguas multíparas jóvenes y con ciclos regulares suelen tener mejores resultados que nulíparas o con antecedentes de infertilidad. Aunque no siempre se descartan yeguas mayores, es necesario evaluar con mayor rigor su estado uterino y su historial hormonal (Foss, 2022).

El cumplimiento de estas condiciones optimiza las probabilidades de éxito en la transferencia embrionaria ICSI y reduce las pérdidas gestacionales tempranas, siendo la calidad reproductiva de la receptora un factor aún más crítico que en otros métodos de reproducción asistida.

8. Criterios de selección de receptoras

La selección y el manejo de la receptora es posiblemente uno de los factores más importantes que afectan el éxito de un programa de transferencia embrionaria. Desde el punto de vista reproductivo, las receptoras deben presentar ciclos estrales normales, estar libres de anomalías uterinas y ováricas, así como de presencia de líquido o aire en el útero, o presencia de quistes uterinos o tumores ováricos; no deben tener historial de problemas reproductivos (D. Vanderwall, 2000; Squires et al., 1999).

Asimismo, se requiere que el cuello uterino no esté dañado ni que sea muy tortuoso, ya que la imposibilidad de atravesar el cuello uterino o la necesidad de ayudar al paso de la pipeta digitalmente son las causas más comunes de fracaso a la hora de lograr una preñez si el operador no tiene la suficiente experiencia o cuando son pocas las receptoras disponibles. El tono uterino y cervical en el momento de la transferencia también son indicadores útiles para tener en cuenta en la elección de la receptora; un pobre tono está asociado con una menor tasa de preñez y, por lo tanto, un mayor porcentaje de preñeces no alcanzadas. (Stout, 2006; Carnevale, Bergfelt, & Ginther, 2000). En general, se requiere que sea un animal de fertilidad comprobada, con al menos una cría, antes de incorporarla al plantel.

Examen de rutina de las yeguas receptoras

Se debe realizar un examen físico general para identificar anomalías del sistema musculoesquelético, ojos, cavidad oral, glándula mamaria y otras áreas. La edad de cada yegua se debe estimar durante el examen oral. Las yeguas jóvenes (15 años) deben identificarse y no seleccionarse como posibles receptoras. Se debe registrar el comportamiento de cada yegua; los caballos díscolos, peligrosos o excepcionalmente nerviosos son un riesgo y no deben conservarse. Posteriormente, se debe realizar una evaluación reproductiva exhaustiva. Se deben examinar los genitales externos para determinar el ángulo y el tono muscular de la vulva. Las yeguas que requieren un procedimiento de Caslick para prevenir la aspiración de aire pueden no ser las receptoras ideales. Se debe examinar el tracto reproductivo mediante palpación y ecografía rectal. Se examinan los ovarios para determinar la presencia de ambos y detectar posibles anomalías. Se registra el tamaño de los folículos, la presencia de tejido lúteo y otros hallazgos significativos. Se examina el útero para determinar el tono muscular, el patrón de edema, la presencia o ausencia de líquido o aire en la luz uterina, quistes endometriales y otros problemas. También se evalúa el tono y la morfología del cuello uterino (McCue & Squires, 2015).

En algunos programas de transferencia de embriones, se toman rutinariamente muestras de cultivo uterino, citología y biopsia de yeguas receptoras durante el examen inicial. En otros

programas, solo se toman muestras uterinas de yeguas con fluido uterino identificado mediante ecografía transrectal. El objetivo es evaluar la salud uterina y determinar si la yegua presenta una afección infecciosa o inflamatoria que pueda afectar negativamente su capacidad de gestación después de la transferencia o impedir que el potro llegue a término. Las yeguas con endometritis activa no deben utilizarse como receptoras, y es cuestionable si se debe considerar a una yegua con endometritis como posible futura yegua receptora (McCue & Squires, 2015). También se utiliza la biopsia endometrial (BSA), una prueba histopatológica que permite evaluar la salud del endometrio y predecir la capacidad reproductiva de la yegua. La clasificación más empleada es la propuesta por Kenney y Doig, la cual establece categorías (I, IIA, IIB y III) con base en los hallazgos histológicos. Esta clasificación se relaciona directamente con la probabilidad de concepción y de llevar la gestación a término: las yeguas clasificadas en Grado I tienen más del 80 % de probabilidad de éxito reproductivo, mientras que las de Grado III presentan menos del 10 % (Crandell, 2025; Van Camp, 1988).

En los programas de transferencia de embriones, la prostaglandina se utiliza únicamente en yeguas receptoras que presentan un cuerpo lúteo funcional, con el objetivo de inducir su regresión y provocar el retorno al estro, lo que permite sincronizar el ciclo estral de la receptora con el de la donante. Según Marenzi (2015), el día en que se administra la prostaglandina se realiza también una evaluación ecográfica para confirmar la identidad de la yegua, descartar gestación, verificar la presencia del cuerpo lúteo y medir el tamaño del folículo dominante. Esta información permite estimar el intervalo hasta la ovulación posterior y organizar el seguimiento reproductivo de la receptora.

En general, el intervalo hasta la ovulación es mayor en yeguas con folículos pequeños al momento de la administración de prostaglandina. El momento de los exámenes posteriores depende del tamaño del folículo más grande al momento de la administración de la prostaglandina. En la mayoría de los casos, se examina a la yegua 4 días después de la administración de la prostaglandina. Posteriormente, se examina a las yeguas cada 2-3 días hasta que un folículo dominante tenga ≥ 35 mm de diámetro; después, se examina a la yegua una vez al día para determinar el día de la ovulación. Todas las yeguas receptoras son examinadas 5 días después de la ovulación para determinar si cumplen los requisitos para recibir un embrión en ese ciclo. Las yeguas calificadas como "aceptables" en este examen están disponibles para ser receptoras durante los siguientes 3-4 días. Cuando el folículo dominante alcanza un diámetro \geq

35 mm, se puede administrar hCG o acetato de deslorelina a la yegua para inducir la ovulación (McCue & Squires, 2015).

Factores que pueden descalificar a una receptora

Existen muchos factores que pueden descalificar o reducir la probabilidad de utilizar a una yegua receptora como candidata para recibir un embrión, entre ellos:

- Ciclo de mala calidad.
- Ovulación dentro de los 2 días posteriores a la recepción de prostaglandinas.
- Ovulación de un folículo anormalmente pequeño.
- Fallo de la ovulación o desarrollo de un folículo anovulatorio hemorrágico.
- Ausencia de edema uterino durante el ciclo.
- Presencia de líquido ecogénico dentro del lumen uterino durante el estro.
- Presencia de líquido dentro del lumen uterino durante el diestro.
- Presencia de una condición médica significativa o un problema de comportamiento.
- Incapacidad para formar un cuerpo lúteo después de la ovulación.
- Progesterona baja (opcional).
- Cuerpo lúteo pequeño.
- Presencia de edema uterino durante el diestro.
- Tono deficiente en el útero o el cuello uterino durante el diestro (McCue & Squires, 2015).

Criterios para la asignación de un embrión a una receptora

Una yegua receptora puede ser seleccionada para recibir un embrión específico según los siguientes criterios: Día de ovulación relativo a la yegua donante, día de la ovulación en relación con el tamaño y la etapa de desarrollo del embrión, calidad del ciclo estral, presencia y calidad del cuerpo lúteo, nivel de progesterona (opcional), tono del útero, tono del cuello uterino, ausencia de edema uterino, tamaño del receptor en relación con el tamaño de la yegua donante, salud física general, características de comportamiento, ausencia de anomalías reproductivas, problemas médicos o preocupaciones de comportamiento (McCue & Squires, 2015).

Monitoreo del ciclo reproductivo

El ciclo reproductivo de las yeguas receptoras debe monitorizarse estrechamente mediante palpación y ecografía rectal. El objetivo es evaluar el desarrollo folicular ovárico, el

patrón de edema endometrial, el tamaño folicular en el momento de la ovulación, determinar el día y el número de ovulaciones, monitorizar el desarrollo del cuerpo lúteo y detectar anomalías reproductivas. Las yeguas receptoras con sospecha de alguna patología reproductiva significativa deben ser evaluadas adecuadamente y no deben recibir un embrión hasta que se identifique y resuelva el problema (McCue & Squires, 2015).

En la gran mayoría de las yeguas, se observará un cuerpo lúteo morfológicamente normal al examinar a la yegua receptora 5 días después de la ovulación (es decir, el “Control de 5 días”). Sin embargo, en un bajo porcentaje de yeguas en esta evaluación se puede observar un cuerpo lúteo pequeño o ausente (McCue & Squires, 2015).

Otros criterios relevantes

Otro criterio para la selección de la yegua receptora óptima para un embrión específico se relaciona con el tamaño de la yegua donante en comparación con el tamaño de la yegua receptora, así como con la salud física y el temperamento de esta última. Idealmente, se seleccionaría una yegua receptora de tamaño similar a la yegua donante, con buena salud física y carácter apacible. Generalmente, se realiza una evaluación final de la yegua receptora elegida inmediatamente antes de recibir un embrión. Es óptimo contar con más de una candidata receptora disponible por si alguna resulta insatisfactoria (McCue & Squires, 2015).

Un nivel elevado de progesterona suele asociarse con la ausencia de edema uterino y un buen tono muscular en el útero y el cuello uterino. Por el contrario, la presencia de edema uterino y un tono muscular deficiente en el útero o el cuello uterino se asocia con una baja concentración de progesterona endógena y, a menudo, descalifica a una yegua como candidata a receptora para ese ciclo. La evaluación de los niveles de progesterona no es un criterio rutinario para la selección de una yegua receptora debido a su alto costo y a la falta de un análisis cuantitativo y rápido de progesterona para la yegua (McCue & Squires, 2015).

Preparación de la yegua receptora para la transferencia

Las yeguas receptoras suelen sedarse de 5 a 10 minutos antes del procedimiento de transferencia. Los medicamentos más comunes que se administran son maleato de acepromacina (10 a 20 mg, IV), clorhidrato de xilacina (150 a 200 mg, IV) o clorhidrato de detomidina (5 a 7,5

mg, IV). La acepromacina es un antagonista de los receptores α -adrenérgicos, mientras que la xilacina y la detomidina son agonistas de los receptores α -adrenérgicos (McCue & Squires, 2015).

La administración de acepromacina durante el diestro puede causar supresión de la actividad miometrial durante 90 minutos y, clínicamente, provocar una disminución del tono uterino, relajación moderada del cuello uterino y relajación leve de la vulva. La administración de xilazina o detomidina durante el diestro aumentará la actividad miometrial durante 30 y 60 minutos, respectivamente, y clínicamente resultará en un aumento del tono uterino sin cambios perceptibles en el cérvix ni en la vulva. No existe un consenso claro sobre qué sedante es más ventajoso, y la preferencia personal del técnico de transferencia generalmente dicta qué fármaco se utiliza, si es que se utiliza alguno (McCue & Squires, 2015).

Prevención de alteraciones luteales

La manipulación cervical durante la transferencia de embriones no quirúrgica puede estar asociada con la liberación de oxitocina y/o prostaglandina, lo que posteriormente puede causar una alteración de la función lútea. Por consiguiente, se ha convertido en práctica habitual administrar un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas antes de la transferencia de embriones no quirúrgica en caballos, siendo el más común la flunixin meglumina (McCue & Squires, 2015).

La flunixin meglumina inhibe las enzimas COX-1 y COX-2, que convierten el ácido araquidónico libre en prostaglandina G y prostaglandina H, respectivamente, y, por lo tanto, se considera un inhibidor inespecífico de la síntesis de prostaglandinas. El ácido meclofenámico es otro fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) que previene la producción de prostaglandinas a través de una inhibición de la prostaglandina H sintasa. Se ha informado que la administración de ácido meclofenámico a yeguas receptoras que ovularon 2 o más días antes que la yegua donante (es decir, +2 o más yeguas receptoras asincrónicas) puede permitir el establecimiento exitoso de gestaciones después de la transferencia (McCue & Squires, 2015).

9. Posibles factores que afectan la transferencia de embrión

Durante la década de 1990 se adoptó una técnica transcervical no quirúrgica, acompañada de un aumento en el número de transferencias realizadas. Sin embargo, el éxito de los primeros intentos de transferencia de embriones no quirúrgica fue decepcionante en comparación con la transferencia quirúrgica. La manipulación excesiva del cérvix y la consiguiente contaminación del útero o la liberación de productos inflamatorios (es decir, prostaglandinas) se propusieron como posibles explicaciones del escaso éxito de la transferencia transcervical de embriones equinos. Se puede inferir que las habilidades del operador al realizar la transferencia transcervical influyen significativamente en la probabilidad de embarazo después de la TE (Cuervo-Arango, Claes, & Stout, 2019).

Según T. A. E. Stout (2006), los factores que afectan el éxito de la transferencia embrionaria son principalmente la calidad del embrión, la técnica de transferencia utilizada (que depende de la experiencia y el manejo que tenga el operador) y la sincronización de la receptora. Dentro de la técnica, las dos principales causas son la contaminación bacterial del útero dominado por progesterona (W. R. Allen, 2005) y/o los disturbios hormonales iniciados por el exceso de dilatación o manipulación del cérvix y dirigidos por oxitocina (Handler et al., 2003) o por la PGF 2α liberada (Kask et al., 1997). Como resultado, muchos operadores tratan a las yeguas con antibióticos sistémicos pre y post transferencia; sin embargo, las altas tasas de preñez alcanzadas por operadores experimentados en ausencia de tratamiento antibiótico sugieren que estos tratamientos son innecesarios si la técnica es llevada a cabo suavemente. Es igualmente posible que la falla de un operador inexperto a la hora de depositar el embrión en la cavidad uterina sea porque la pipeta no ha llegado a avanzar a través de cuello uterino o porque el embrión queda adherido en la pipeta de transferencia y es removida con ella al quitarla (T. A. E. Stout, 2006).

La edad es un factor importante relacionado con la fertilidad de la yegua. En yeguas mayores, la PR tiende a disminuir y la EEL a aumentar (15–19). Por lo tanto, generalmente se sugiere considerar solo yeguas de entre 3 y 10-12 años de edad para ser admitidas en el rebaño receptor (6, 20, 21), aunque en estudios anteriores también se han utilizado receptores de mayor edad (4, 9). En cuanto al número de transferencias realizadas a una misma receptora durante una misma temporada reproductiva, generalmente se considera que una receptora sana puede recibir dos o tres embriones en un año (6). En tres transferencias, este parámetro no parece afectar la PR

ni la EEL según estudios previos, ya que la técnica de transferencia no quirúrgica no es un procedimiento dañino y no afecta la fertilidad de la receptora si no queda embarazada (Reyes-Perea, Guerrero-Netro, & Diaw, 2023).

Además, desde la llegada de la ecografía, se ha informado de la detección de líquido intrauterino (LIU) tanto en estro como en diestro, y ha aumentado la conciencia de la frecuencia de esta anomalía. Una pequeña cantidad de IUF anecoica es un hallazgo común dentro del lumen uterino de yeguas sanas durante el estro y generalmente se considera que no afecta las tasas de embarazo, mientras que un volumen de líquido superior a 2 cm se ha asociado con una disminución de las tasas de embarazo. Incluso pequeñas acumulaciones de FIU anecoica durante el período inmediatamente posterior a la ovulación podrían afectar negativamente la fertilidad, y se ha demostrado que el líquido libre dentro del lumen uterino durante el diestro debe considerarse anormal porque indica un proceso inflamatorio y/o una depuración uterina alterada. De hecho, el drenaje uterino inadecuado es una causa de subfertilidad en yeguas pluríparas viejas y en algunas yeguas vírgenes que no dilatan completamente su cuello uterino durante el estro. Sin embargo, hasta donde saben los autores, nunca se ha descrito el efecto de la detección de IUF en yeguas receptoras antes y después de la ovulación sobre PR y EEL en un programa de ET (Reyes-Perea, Guerrero-Netro, & Diaw, 2023).

Según Reyes-Perea, Guerrero-Netro y Diaw (2023), la RP y la EEL se ven influenciadas por la edad del receptor. La RP a los 14 y 45 días no mostró diferencias entre yeguas de diferentes grupos de edad, pero la EEL aumentó en yeguas de entre 10 y 13 años en comparación con yeguas muy jóvenes de entre 3 y 5 años. Este resultado concuerda con Carnevale et al., quienes no observaron diferencias en la RP entre las receptoras más jóvenes (2-9 años) y mayores (10-18 años), pero sí observaron una tendencia al aumento de la EEL en el grupo de yeguas mayores (13,3 % frente a 20,5 %) (Cuervo-Arango et al.; Claes et al.; Reyes-Perea, Guerrero-Netro, & Diaw, 2023).

10. Influencia de la donante en la calidad del embrión

La calidad del embrión ICSI está estrechamente relacionada con el estado de la donante. Donantes de 6–15 años presentan significativamente mayores tasas de ovocitos

maduros y desarrollo embrionario —incluyendo producción de blastocistos— frente a donantes más jóvenes o mayores (Stout et al., 2024).

Stout et al. (2024) documentaron, en 7.993 sesiones OPU, que independientemente de la raza, las yeguas entre 6–15 años produjeron mejores resultados en términos de número y tasa de blastocistos. Asimismo, la fase del ciclo estral (folicular vs. lútea) y la estación climática (mayor éxito en verano) fueron predictores estadísticamente significativos de rendimiento embrionario.

La edad avanzada de la donante se asocia a deterioro ovocitario, incremento de anomalías cromosómicas, daño mitocondrial y alteraciones citosqueléticas del ovocito, lo cual repercute directamente en la viabilidad embrionaria tras ICSI (Kocitchio et al., 2010; Coticchio et al., 2010; Cuervo-Arango et al., 2019).

Estudios sobre estructuras subcelulares muestran que ovocitos de donantes mayores presentan desalineación cromosómica, aneuploidías y defectos en microtúbulos o microfilamentos, lo que afecta frecuentemente la primera división celular tras ICSI (Coticchio et al., 2010; Cuervo-Arango et al., 2019).

11. Efecto de estación, ciclo y semen del semental

La estación del año influye de manera moderada pero significativa en la producción de ovocitos maduros, siendo el verano el periodo óptimo para OPU en semiaridez templada (Stout et al., 2024). Estas condiciones ambientales mejoran la calidad y maduración de ovocitos en donantes, acelerando también el desarrollo embrionario temprano.

La fase del ciclo estral también es relevante: se obtienen mejores tasas de maduración y desarrollo cuando la OPU se realiza en fase folicular (Stout et al., 2024).

Por otro lado, aunque menos estudiado que en humanos, se ha observado que la calidad del semen —incluyendo raza del semental, técnica de preparación, lote y criopreservación— incide en la eficiencia de ICSI y la tasa de blastocistos (Fonte et al., 2024).

Metodología

Diseño del estudio

Se llevó a cabo un estudio observacional de tipo transversal, estructurado en una fase descriptiva y otra analítica, bajo un enfoque cuantitativo. El objetivo fue identificar y evaluar variables reproductivas y de manejo asociadas al éxito gestacional en yeguas receptoras, posterior a la transferencia de embriones obtenidos mediante inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

El procesamiento estadístico se realizó con un nivel de confianza del 95 %. La base de datos fue organizada utilizando Microsoft Excel, mientras que el análisis estadístico y la estimación de correlaciones de Pearson se efectuaron mediante programación en Python.

Lugar y periodo de estudio

El estudio se llevó a cabo en el centro de reproducción equina Biohorse ubicado en Cundinamarca, Colombia, el cual cuenta aproximadamente con más de 600 yeguas receptoras. El registro de datos se efectuó entre enero y abril de 2025.

Población y muestra

La muestra estuvo conformada por 117 yeguas receptoras, seleccionadas bajo criterios estrictos de salud, fisiología reproductiva y condiciones sanitarias homogéneas:

- Edad comprendida entre 4 y 9 años.
- Buen estado corporal y conformación perianal adecuada.
- Ausencia de enfermedades infecciosas y resultados negativos para anemia infecciosa equina.
- Manejo nutricional uniforme: pasto y agua ad libitum, suministro diario de concentrado y sin suplementos adicionales.

Criterios de inclusión

Las yeguas fueron seleccionadas bajo las siguientes condiciones mediante ecografía reproductiva y palpación rectal:

- Útero de morfología redondeada, sin presencia de edema o líquido intrauterino.
- Ovarios con cuerpo lúteo funcional en casos de ovulación natural o seguimiento correcto del protocolo de sincronización hormonal.
- Ausencia de patologías clínicas al momento de la transferencia.
- Edad reproductiva activa (4–9 años).
- Transferencia realizada exactamente cuatro días después de la ovulación (real o inducida).

Criterios de exclusión

Se excluyeron yeguas que presentaran:

- Embriones con calidad distinta a Grado 1.

Protocolos de manejo reproductivo

Se consideraron dos esquemas de manejo reproductivo:

1. Ovulación natural: monitoreada mediante palpación y ecografía transrectal, en las yeguas que presentaban ciclos regulares se utilizó deslorelin (1 mg/mL) como inductores de la ovulación. Se administró 1 mL por vía intramuscular, equivalente a 1 mg de principio activo, cuando el folículo dominante alcanzaba un diámetro ≥ 38 mm y existían signos de edema uterino compatibles con estro (edema 3). El objetivo de esta aplicación fue inducir la ovulación de manera controlada y sincronizar el momento de la transferencia embrionaria.
2. Protocolo hormonal con estrógenos (E2) y progesterona (P4) para yeguas acíclicas: Día 0: aplicación de 2,5 mg de benzoato de estradiol vía intramuscular en la tabla del cuello con el fin de inducir la expresión estrogénica necesaria para la sincronización del ciclo, luego se revisaba a los dos días mediante evaluación ecográfica para determinar la presencia de edema uterino, si la yegua hace un buen edema (1.5 a 2) se realiza la aplicación de la segunda dosis de benzoato de estradiol que corresponde a 5 mg vía intramuscular en la tabla del cuello. Dos días después se realiza la aplicación de 1500 mg de progesterona de larga acción (300mg/ml en aceite de sésamo) vía intramuscular en el

anca de la yegua y este último día del protocolo se consideró como el día de ovulación en la yegua receptora. Esta aplicación tuvo como propósito mantener un ambiente endocrino estable y simular la fase lútea.

Técnica de transferencia embrionaria

Todas las transferencias fueron realizadas por el mismo médico veterinario especializado, garantizando homogeneidad técnica. El procedimiento se efectuó bajo condiciones asépticas, siguiendo los protocolos estándar para transferencia embrionaria en equinos.

1. Preparación de la receptora:

- Elevación de la cola y colocación de venda protectora.
- Lavado de la región perianal y vulvar con agua y jabón de pH neutro (tres lavados) y secado con toallas estériles, no se ponía alcohol.

2. Preparación del embrión:

- Embriones de calidad Grado 1, obtenidos por ICSI, vitrificados y desvitrificados en laboratorio especializado.
- Transporte a 37 °C en unidad térmica sellada.

3. Transferencia:

- Introducción del brazo protegido con manga estéril a través de la vulva para guiar el cérvix.
- Inserción de catéter estéril con funda de plástico para la protección de la pistola a través de la vulva y el cérvix hacia el cuerpo uterino.
- Depósito del embrión en el cuerno uterino cercano al ovario con cuerpo lúteo funcional.

4. Tratamiento post-transferencia:

- Progesterona intramuscular: 1500 mg de progesterona vía intramuscular en el anca de la yegua, para las que habían sido sincronizadas con el protocolo hormonal, es decir, no tenían un cuerpo lúteo y 600 mg de progesterona via intramuscular en el anca de la yegua en las que tuvieron ovulación natural.

- Dexametasona intravenosa (OVER, fosfato sódico de dexametasona, 4 mg/mL) en una dosis de 5 mL por vía intramuscular profunda, equivalente a 20 mg de principio activo para reducir la respuesta inflamatoria cervical.
- Suplementación hormonal hasta los 90 días de gestación. Se suplementaban con 1500 mg de progesterona vía intramuscular en el anca de la yegua semanalmente.

El diagnóstico inicial de gestación se realizó mediante ecografía transrectal a los cinco días post-transferencia, verificando la presencia de vesícula embrionaria. Posteriormente, se efectuó una segunda ecografía una semana después para confirmar la viabilidad temprana del embrión.

En el presente estudio se evaluó como variable dependiente el resultado reproductivo de las yeguas receptoras, expresado como diagnóstico de preñez (preñada/no preñada) posterior a la transferencia de embriones. Como variables independientes se consideraron factores relacionados tanto con la receptora como con el embrión. Entre las variables asociadas a la receptora se incluyeron: el tipo de ovulación (inducida con progesterona o natural), el día de desarrollo embrionario simulado al momento de la transferencia (días 6, 7, 8, 9 y 10 post ovulación), la condición reproductiva (primeriza o no primeriza) y el mes de transferencia (enero, febrero, marzo y abril). En cuanto a las variables asociadas al embrión, se registró la calidad embrionaria, que en todos los casos correspondió a Grado 1, y el andar genético del embrión, clasificado en tipo 1 (diagonal) y tipo 2 (fino).

Análisis de datos

Los datos recolectados fueron organizados inicialmente en una hoja de cálculo de Microsoft Excel, asignando un código único a cada yegua receptora e incluyendo las variables evaluadas: estado de preñez, tipo de ovulación, días simulados de desarrollo embrionario, andar, mes de transferencia, condición de primeriza y calidad embrionaria.

Posteriormente, se exportaron a la plataforma Google Colab para su procesamiento estadístico utilizando el lenguaje de programación Python. Se realizó un análisis descriptivo mediante frecuencias absolutas y relativas para cada variable, y se generaron gráficos para facilitar la visualización de la distribución de los mismos.

Asimismo, se efectuó un análisis de correlaciones de Pearson para evaluar la relación entre las variables independientes y el estado de preñez, considerando un nivel de confianza del 95 %. La interpretación de los coeficientes se realizó según los criterios establecidos para la magnitud de las correlaciones, identificando relaciones positivas o negativas y su nivel. Este enfoque permitió determinar la existencia y el grado de asociación entre los factores evaluados y la probabilidad de preñez exitosa en yeguas receptoras de embrión.

Resultados

Las variables se evaluaron en las receptoras teniendo como punto de partida un total de 117 yeguas, 74 (63,25 %) de estas resultaron preñadas y el restante no gestaron. Del tipo de ovulación presentada 83 (70,94 %) fueron sincronizadas con P4 y 34 (29,06 %) presentaron ovulación natural. En cuanto al día simulado de desarrollo embrionario al momento de la transferencia (todas consideradas como si tuvieran 4 días post-ovulación), con una distribución de 2 yeguas con día 6 (1,71 %), 62 con día 7 (53,0 %), 30 con día 8 (25,64 %), 21 con día 9 (17,95 %) y 1 con día 10 (0,85 %). EL 100 % de las yeguas presentaron una calidad del embrión Grado 1. El andar de las receptoras mostró que 77 (65,81 %) presentaron andar tipo 1 (diagonal) y 40 (34,19 %) andar tipo 2(fino). En relación con el mes de transferencia, se realizaron 15 en enero (12,82 %), 10 en febrero (8,55 %), 49 en marzo (41,88 %) y 43 en abril (36,75 %). Finalmente, 73 (62,39 %) no eran primerizas y 44 (37,61 %) sí lo eran.

Se analizaron las estadísticas descriptivas de la variable estado, organizadas según el tipo de ovulación (natural o protocolo con P4). En el grupo de ovulación natural, se evaluaron 49 individuos. La proporción promedio de casos positivos en la variable estado fue del 69,4 %, con una desviación estándar (DE) de 0,46, lo que indica una variabilidad moderada en los resultados. La mediana fue 1, lo que significa que al menos la mitad de los animales en este grupo obtuvo un resultado positivo. Por otro lado, en el grupo de protocolo con P4, se analizaron 68 individuos. La media de estado fue ligeramente más baja, con un 54,4 % de resultados positivos, y una DE de 0,50, reflejando una variabilidad algo mayor en comparación con el grupo natural. La mediana también fue 1, lo que indica que en al menos la mitad de los casos se obtuvo un resultado positivo. Ambos grupos presentaron valores mínimos de 0 y máximos de 1, confirmando que se trata de una variable dicotómica (preñez o no preñez). Estos resultados sugieren que las yeguas con ovulación natural tienden a presentar una mayor proporción de éxito en la preñez que aquellas tratadas con protocolo hormonal, aunque la diferencia observada es moderada y requeriría una prueba estadística formal para determinar su significancia.

Para la variable estado, organizadas según los días simulados de desarrollo embrionario (6, 7, 8, 9 y 10 días). En el grupo de 6 días, se evaluaron 18 individuos, con una media de preñez del

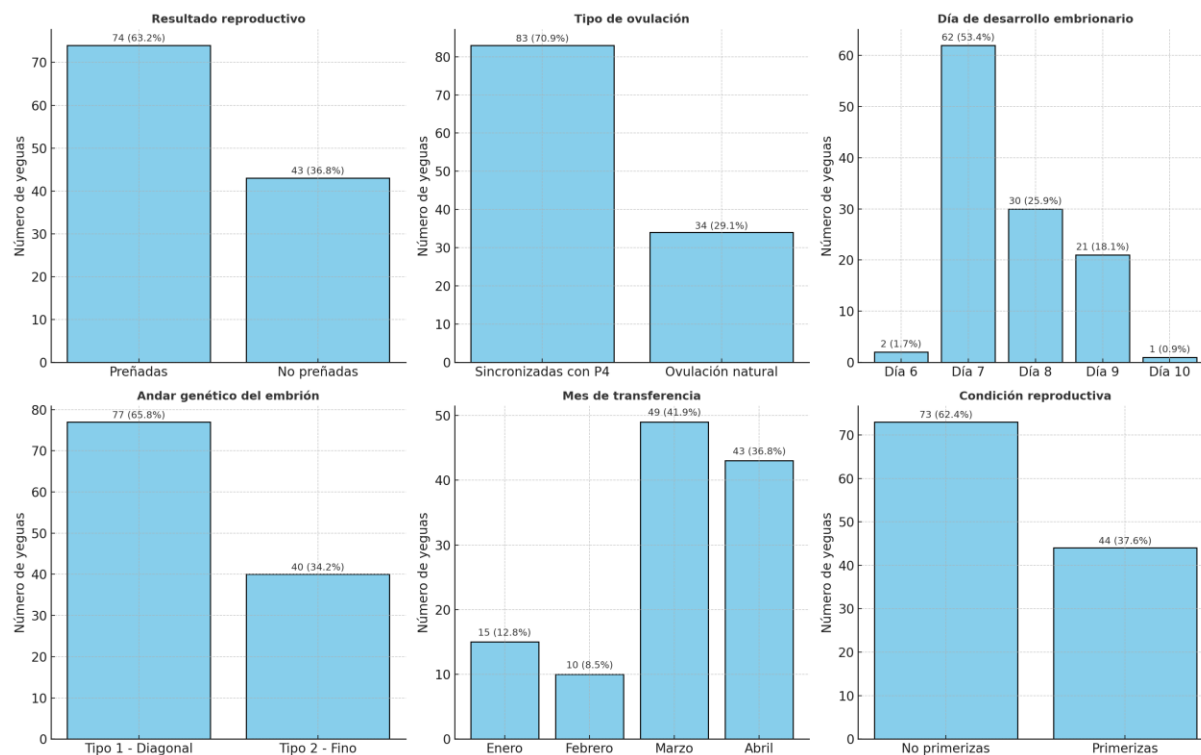
66,7 % y DE de 0,48; En el grupo de 7 días, se evaluaron 20 individuos, con media de 70 % y DE de 0,47; En el grupo de 8 días, se analizaron 27 yeguas, con media de 63 % y DE de 0,49. En el grupo de 9 días, participaron 28 yeguas, con media de 50 %, DE de 0,51 y mediana 0,5, lo que sugiere menor éxito reproductivo. Finalmente, en el grupo de 10 días, se registraron 24 casos, con media de 50 %, DE de 0,51 y mediana 0,5. Estos resultados muestran una ligera tendencia decreciente en la proporción de preñez conforme aumentan los días simulados de desarrollo embrionario, especialmente a partir del día 9.

El andar de la yegua (diagonal y fino). En el grupo de diagonal, se evaluaron 93 individuos, con una media de éxito del 63,4 %, DE de 0,48 y mediana 1. En el grupo de fino, se analizaron 24 individuos, con media de 54,2 %, DE de 0,51 y mediana 0,5. Los resultados sugieren que las yeguas con andar al trote muestran una ligera ventaja en la proporción de preñez frente a las de galope, aunque la diferencia no es muy marcada.

El mes en que se realizó la transferencia (enero, febrero, marzo y abril). En enero, se evaluaron 31 yeguas, con media de éxito del 61,3 %, DE de 0,49 y mediana 1. En febrero, participaron 33 yeguas, con media de 63,6 %, DE de 0,48 y mediana 1. En marzo, fueron 25 yeguas, con media de 64 %, DE de 0,48 y mediana 1. En abril, se registraron 28 yeguas, con media de 53,6 %, DE de 0,51 y mediana 0,5. Se observa una ligera disminución en abril, aunque las variaciones entre meses son pequeñas y no evidencian una tendencia estacional clara.

Condición reproductiva de la yegua (primeriza o no primeriza). En el grupo de no primerizas, se evaluaron 73 individuos, con media de éxito del 67,1 %, DE de 0,47 y mediana 1. En el grupo de primerizas, se analizaron 44 individuos, con media de 56,8 %, DE de 0,50 y mediana 1. Los resultados indican que las yeguas no primerizas tienden a mostrar una mayor proporción de éxito en la preñez respecto a las primerizas.

La calidad embrionaria. En el grupo de calidad 1, que incluye la totalidad de las transferencias (117 casos), la media de éxito fue del 63,2 %, con DE de 0,48 y mediana 1. Dado que todos los embriones fueron de calidad 1, no se dispone de un grupo de comparación; sin embargo, el valor observado representa el rendimiento reproductivo promedio para esta calidad en la población estudiada.



Correlaciones entre variables y estado de preñez

El desarrollo embrionario presentó la correlación negativa más alta con un r de $-0,24$, lo que sugiere que, a medida que aumenta el número de días simulados, la probabilidad de preñez tiende a disminuir. La ovulación y en andar presentaron también correlaciones negativas con tendencia a ser más débiles de $-0,18$ y $-0,16$ respectivamente. La variable condición reproductiva (primeriza) presentó una correlación negativa muy baja ($r = -0,10$), lo que indica que ser primeriza podría asociarse levemente con una menor probabilidad de preñez, aunque la relación observada es débil.

En contraste, la variable mes de transferencia mostró la única correlación positiva ($r = 0,05$), de magnitud muy baja, lo que indica que el mes en que se realiza la transferencia tendría un efecto mínimo y en sentido positivo sobre la probabilidad de preñez.

Los coeficientes de correlación se analizaron de acuerdo con los criterios establecidos por Cohen (1988).

Esto implica que, aunque se observan tendencias, ninguna de las variables evaluadas presenta una correlación fuerte con el éxito reproductivo, por lo que se recomienda la realización de análisis adicionales que permitan explorar interacciones o efectos combinados.

Discusión

En la literatura sobre reproducción asistida en equinos se ha señalado que la sincronización adecuada entre donante y receptora, el estado fisiológico del útero, la calidad del embrión y el momento de la transferencia son factores determinantes en el éxito de un programa de transferencia embrionaria, incluida la técnica de ICSI (Stout, 2006; Squires et al., 1999; Carnevale et al., 2000). El marco teórico mostró que el resultado de la transferencia puede variar según la etapa de desarrollo del embrión y la receptividad uterina, con mejores tasas de preñez cuando existe una correspondencia estrecha entre ambos (Cuervo-Arango et al., 2019).

En el presente estudio se evaluaron 117 yeguas receptoras de Caballo Criollo Colombiano, considerando variables como el tipo de ovulación (sincronizada con P4 o natural), el día simulado de desarrollo embrionario, el andar genético del embrión, el mes de transferencia y la condición reproductiva de la receptora. Si bien la bibliografía sugiere que estas variables pueden influir en la tasa de éxito (Stout, 2006; Aurich, 2011), los resultados obtenidos no mostraron asociaciones estadísticamente significativas entre ellas y la preñez.

Esta ausencia de significancia estadística no necesariamente indica que los factores evaluados carezcan de influencia, sino que en el contexto del estudio podrían haber intervenido limitaciones metodológicas o biológicas. En primer lugar, la calidad embrionaria fue homogénea (100 % Grado 1), lo que impidió contrastar este factor como variable explicativa, a pesar de que la literatura destaca su importancia (Morrell, 2011). En segundo lugar, el tamaño de la muestra, aunque considerable (117 receptoras), puede no haber sido suficiente para detectar diferencias en variables con efecto sutil, como el mes de transferencia o la condición reproductiva, donde la variabilidad individual entre animales puede enmascarar tendencias (Tremoleda et al., 2003).

Otro aspecto relevante es que, aunque se ha descrito que la sincronización estricta entre el día de ovulación de la receptora y el desarrollo embrionario de la donante aumenta las probabilidades de éxito (Squires et al., 1999; Hinrichs, 2018), en este estudio la simulación de desarrollo embrionario al día 4 post-ovulación podría haber reducido la sensibilidad del análisis para discriminar diferencias en este factor. De igual forma, si bien algunos autores sugieren que la condición reproductiva (primeriza o no primeriza) influye en la receptividad uterina (Carnevale & Ginther, 2000), en la población estudiada no se evidenció un efecto claro.

Respecto al andar genético del embrión, la literatura disponible sobre el Caballo Criollo Colombiano es escasa, y no existen reportes que lo asocien directamente con el éxito de la transferencia embrionaria. Los resultados de este trabajo, al no encontrar diferencias, coinciden con la idea de que este factor no sería determinante en la implantación inicial, aunque podrían explorarse efectos a largo plazo relacionados con el desarrollo gestacional o características fenotípicas de la descendencia.

En cuanto al mes de transferencia, si bien estudios previos sugieren que la estacionalidad puede influir en la eficiencia reproductiva por factores ambientales y de manejo (Aurich, 2011), en este estudio no se hallaron diferencias significativas entre los meses evaluados. Esto puede deberse a que el rango temporal (enero-abril) no representó variaciones climáticas extremas, como las descritas en otras latitudes.

En síntesis, la comparación de los resultados con la literatura indica que, aunque el marco teórico reconoce múltiples factores de influencia en la transferencia de embriones, en esta población específica de yeguas receptoras de Caballo Criollo Colombiano no se evidenció un efecto significativo de las variables evaluadas sobre la tasa de preñez. Este hallazgo sugiere que otros factores no considerados, como la pericia del operador, cambios en la alimentación de las yeguas receptoras, la calidad del semen utilizado en ICSI, la salud uterina microscópica de las receptoras o la variabilidad genética individual, podrían haber tenido un mayor peso en los resultados obtenidos y que se necesitan realizar más estudios para poder tener nuevos hallazgos.

Conclusiones

El presente estudio evaluó los factores que podrían influir en el éxito de la transferencia de embriones obtenidos por inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) en yeguas receptoras de Caballo Criollo Colombiano. Con base en la metodología empleada, se analizaron un total de 117 receptoras, considerando variables asociadas tanto a la receptora (tipo de ovulación, día de desarrollo embrionario simulado, condición reproductiva y mes de transferencia) como al embrión (andar genético y calidad embrionaria). El objetivo fue identificar si dichas variables tenían relación con el establecimiento de la gestación, definida como diagnóstico de preñez posterior a la transferencia.

Los resultados mostraron que, de las 117 yeguas evaluadas, el 63,25 % resultó preñada, mientras que el 36,75 % no logró la gestación. Sin embargo, el análisis estadístico no encontró asociaciones significativas entre la tasa de preñez y ninguna de las variables consideradas. Este hallazgo es particularmente relevante, ya que la literatura revisada en el marco teórico señalaba que factores como la sincronización entre la donante y la receptora, la etapa de desarrollo embrionario, la condición reproductiva del animal y la época del año podían tener un impacto importante sobre el éxito de la transferencia embrionaria (Squires et al., 1999; Stout, 2006; Aurich, 2011; Cuervo-Arango et al., 2019).

La ausencia de significancia estadística en este trabajo no implica necesariamente que estas variables carezcan de influencia en la eficiencia reproductiva, sino que pone en evidencia algunas consideraciones metodológicas y biológicas. En primer lugar, la calidad embrionaria fue homogénea (100 % Grado 1), lo que impidió analizar esta variable como factor diferenciador, pese a que la literatura señala que es uno de los principales predictores del éxito gestacional (Morrell, 2011). En segundo lugar, si bien la muestra fue considerable, es posible que no haya tenido el tamaño suficiente para detectar diferencias en variables con un efecto menor, como el mes de transferencia o la condición reproductiva.

Es importante tener en cuenta que la metodología utilizada consideró todos los embriones como si estuvieran en día 4 post-ovulación, lo que redujo la capacidad de analizar con precisión

el impacto de la sincronización donante–receptora. Autores como Hinrichs (2018) han demostrado que la correspondencia estricta entre el estadio embrionario y la receptividad endometrial es un factor decisivo, con mejores tasas de éxito cuando la receptora ovula uno o dos días después de la donante. Al no poder discriminar este factor con exactitud, es posible que se perdiera información clave sobre su verdadera influencia en la población estudiada.

Respecto al andar genético del embrión, los resultados obtenidos sugieren que no existe relación directa entre este rasgo y el éxito de la implantación inicial. La literatura carece de reportes que relacionen el andar con la fertilidad o la receptividad uterina, por lo que este hallazgo refuerza la hipótesis de que se trata de una característica genética que no afecta los primeros estadios de la gestación, aunque futuras investigaciones podrían explorar si existen implicaciones en el desarrollo posterior del potro o en su desempeño funcional.

En cuanto al mes de transferencia, el estudio no evidenció diferencias significativas entre los meses de enero y abril. Esto contrasta con lo observado en países de latitudes templadas, donde la estacionalidad ejerce un efecto marcado sobre el ciclo reproductivo de la yegua (Aurich, 2011). En el contexto colombiano, donde las variaciones climáticas son menos extremas, este factor parece tener un impacto limitado sobre los resultados reproductivos en la raza Criollo Colombiano.

En síntesis, el presente trabajo aporta al conocimiento sobre la transferencia de embriones ICSI en el Caballo Criollo Colombiano al demostrar que, en la población estudiada, las variables analizadas no mostraron un efecto estadísticamente significativo sobre la tasa de preñez. Este resultado es valioso porque invita a replantear la forma en que se priorizan ciertos criterios de selección en los programas de transferencia, sugiriendo que factores adicionales, como la pericia del operador, la calidad del semen empleado, la salud uterina a nivel histológico o la variabilidad genética individual de las receptoras, podrían desempeñar un papel más determinante que los aquí considerados.

De igual manera, este estudio pone de manifiesto la necesidad de continuar investigando con diseños más robustos, que permitan incluir un mayor número de animales, mayor diversidad

de condiciones reproductivas y un análisis más fino de la sincronización donante–receptora. Los hallazgos obtenidos, aunque no evidencian asociaciones estadísticas entre las variables estudiadas y la preñez, contribuyen al campo de la reproducción asistida en equinos al documentar la experiencia en Caballos Criollo Colombianos y aportar evidencia local que complementa los reportes internacionales.

Referencias

- Basto Ramírez, A. M., & González Noguera, Y. P. (s.f.). *Fertilidad en diferentes protocolos de transferencia de embriones en yeguas*. Universidad Cooperativa de Colombia.
- Carnevale, E. M., Bergfelt, D. R., & Ginther, O. J. (2000). Follicular activity and hormonal concentrations in pregnant and nonpregnant mares. *Theriogenology*, 53(1), 441–459. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00251-1..](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00251-1..)
- Castaño, F., Ocampo, A., Restrepo, G., & Gómez, J. (2015). Resultados de un programa de transferencia de embriones en yeguas criollas colombianas. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 10(2), 61–68. <https://doi.org/10.21615/cesmvz.10.2.6>.
- Causil-Vargas, J., Figueroa, J., & Arango, J. (2019). Estructura genética del Caballo Criollo Colombiano a partir de genes de color de pelaje. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 14(2), 85–93.
- Claes, A., Cuervo-Arango, J., van den Broek, J., Galli, C., Colleoni, S., Lazzari, G., Deelen, C., Beitsma, M., & Stout, T. A. E. (2019). Factors affecting the likelihood of pregnancy and embryonic loss after transfer of cryopreserved in vitro produced equine embryos. *Equine Veterinary Journal*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1111/evj.13028>.
- Coticchio, G., Dal Canto, M., Guglielmo, M. C., Mignini Renzini, M., Fadini, R., & Lazzari, G. (2010). Cytoskeletal alterations associated with donor age and culture interval for equine oocytes and potential zygotes that failed to cleave after ICSI. *Reproduction*, 139(2), 267–279. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0218>.

- Crandell, K. (2025, junio 11). Scoring endometrial biopsies to predict mare fertility. Kentucky Equine Research. <https://ker.com/equinews/scoring-endometrial-biopsies-to-predict-mare-fertility/>.
- Cuervo-Arango, J., Claes, A. N., & Stout, T. A. E. (2019). In vitro-produced horse embryos exhibit a very narrow window of acceptable recipient mare uterine synchrony compared with in vivo-derived embryos. *Reproduction, Fertility and Development*, 31(12), 1904–1911. <https://doi.org/10.1071/RD19294>.
- Cuervo-Arango, J., Claes, A. N., & Stout, T. A. E. (2019). The recipient's day after ovulation and the number of corpora lutea influence the likelihood of pregnancy in mares following transfer of ICSI frozen embryos. *Theriogenology*, 135, 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.06.020>.
- Foss, R. (2023). Intracytoplasmic sperm injection-produced equine embryos: Transport, thawing, and transfer. Equine Medical Services, Inc.
- Gallego-Rodríguez, J., Rodríguez-Molano, S., & Paredes-Cañón, J. (2020). Etiología bacteriana y sensibilidad antimicrobiana en yeguas Criollo Colombiano con endometritis. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 15(1), 45–56.
- Galli, C., Colleoni, S., Duchi, R., Lagutina, I., & Lazzari, G. (2007). Developmental competence of equine oocytes and embryos obtained by in vitro procedures. *Animal Reproduction Science*, 98(1–2), 39–55. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.10.001>.
- Hinrichs, K., Choi, Y. H., Love, C. C., & Spacek, S. (2014). Use of in vitro maturation of oocytes, intracytoplasmic sperm injection and in vitro culture to the blastocyst stage in a commercial equine assisted reproduction program. *Journal of Equine Veterinary Science*, 34(2), 176–183. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.09.013>.

- Jacob, J. C. F., Haag, K. T., Santos, G. O., Oliveira, J. P., Gastal, M. O., & Gastal, E. L. (2012). Efecto de la edad del embrión y la asincronía de la receptora en las tasas de embarazo en un programa comercial de transferencia de embriones equinos. *Theriogenology*, 77(6), 1159–1166. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.10.022>.
- Marenzi, M. I. (2015). Aspectos operativos en transferencia embrionaria equina y análisis del potencial de la tecnología de criopreservación [Trabajo final de grado, Universidad Católica Argentina]. Repositorio Institucional de la Universidad Católica Argentina. <https://repositorio.uca.edu.ar/handle/123456789/432>.
- McCue, P. M., & Squires, E. L. (2015). *Equine embryo transfer*. Teton NewMedia/CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b18887>.
- McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., & Varner, D. D. (Eds.). (2011). *Equine reproduction* (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
- Morató, R., & Mogas, T. (2014). Advances in in vitro embryo production in horses: A review. *Reproduction in Domestic Animals*, 49(S4), 37–44. <https://doi.org/10.1111/rda.12339>.
- Oliveira, R. A., Alonso, M. A., Fonte, J. S., & Fernandes, C. B. (2024). Equine ICSI: An update on semen perspective. *Animal Reproduction*, 21(4), Article e20240015. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2024-0015>.
- Paredes-Cañón, J., Rodríguez-Molano, S., & López, D. (2023). Endometritis crónica en yegua Criollo Colombiano: reporte de caso. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 18(2), 59–64.
- Paredes-Cañón, J., Rodríguez-Molano, S., & Parra-Arango, J. (2012). Intervalo interovulatorio y características del ciclo estral en yeguas criollas colombianas. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 7(2), 35–42.

- Paredes-Cañón, J., Rodríguez-Molano, S., & Parra-Arango, J. (2013). Relación entre el tamaño del cuerpo lúteo y la concentración de progesterona sérica en yeguas criollas colombianas. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 8(1), 21–29.
- Rader, K., Choi, Y., & Hinrichs, K. (2016). Intracytoplasmic sperm injection, embryo culture and transfer of in vitro–produced blastocysts. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 32(2), 401–413. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2016.07.006>
- Restrepo, G., Gómez, J., Ocampo, A., & Castaño, F. (2013). Evaluación de la calidad espermática en caballos Criollo Colombiano mediante sistemas CASA y técnicas convencionales. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 26(2), 105–114.
- Restrepo-Betancur, G., Ocampo, A., & Gómez, J. (2014). Comparación de dos diluyentes en la criopreservación de semen de caballos Criollo Colombiano. *Revista MVZ Córdoba*, 19(3), 4222–4231. <https://doi.org/10.21897/rmvz.52>.
- Reyes-Perea, A. D., Diaw, M., & Guerrero-Netro, H. M. (2023). Tecnologías de reproducción asistida en caballos: una revisión sistemática. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 49(5). <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2023.49.007871>.
- Reyes-Perea, A. D., Guerrero-Netro, H. M., & Diaw, M. (2023). Assisted reproductive technologies in horses: An update. *Animals*, 13(11), 1799. <https://doi.org/10.3390/ani13111799>.
- Solano-Moncada, M. A. (2021). Evaluación de un programa de transferencia de embriones en yeguas de Caballo Criollo Colombiano en el Oriente antioqueño [Trabajo de grado, Corporación Universitaria Unilasallista]. Repositorio Institucional Unilasallista.
- Squires, E. L., Garcia, R. H., & Ginther, O. J. (1985). Factors affecting the success of equine embryo transfer. *Equine Veterinary Journal*, 17(2), 92–95. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1985.tb02511.x>

- Stout, T. A. E. (2006). Equine embryo transfer: Review of developing potential. *Equine Veterinary Journal*, 38(5), 467–478. <https://doi.org/10.2746/042516406778400529>.
- Stout, T. A. E. (2012). Cryopreservation of equine embryos: Current state-of-the-art. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(S4), 84–89. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02046.x>.
- Stout, T. A. E., Broeckx, B., & Claes, A. N. (2024). Successful equine in vitro embryo production by ICSI – Effect of season, mares’ age, breed, and phase of the estrous cycle on embryo production. *Theriogenology*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2024.01.005>.
- Tarazona, R., Martínez, M., Cárdenas, H., & Gómez, J. (2007). Caracterización genética del Caballo Criollo Colombiano mediante microsatélites. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20(4), 441–451.
- Tremoleda, J. L., Stout, T. A. E., Lagutina, I., Lazzari, G., Bevers, M. M., Colenbrander, B., & Galli, C. (2003). Effects of in vitro production on horse embryo morphology, cytoskeletal characteristics, and blastocyst capsule formation. *Biology of Reproduction*, 69(6), 1895–1906. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.018515>
- Van Camp, S. D. (1988). Endometrial biopsy of the mare: A review and update. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 4(2), 229–245. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30639-9](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30639-9)