

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI



UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES.

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

TEMA:

“OBTENCIÓN DE CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS UTILIZANDO
FILGRASTIM® A 3 DIFERENTES DOSIS 5, 10 Y 15 MICROGRAMOS EN
CUYES (CAVIA PORCELLUS)”

AUTOR.

Edison Gustavo Sánchez Cepeda

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

Latacunga-Ecuador

2015

AUTORÍA

Yo, Edison Gustavo Sánchez Cepeda, declaro que el trabajo aquí descrito, la responsabilidad de la investigación, ideas expuestas, resultados y conclusiones de la presente tesis son de mi autoría y que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica de Cotopaxi puede hacer uso de los derechos correspondientes a éste trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

.....

Edison Gustavo Sánchez Cepeda

Latacunga, Octubre del 2015

CARTA DE APROBACIÓN

DEL DIRECTOR DE TESIS

Cumpliendo con el Reglamento del Curso Profesional de la Universidad Técnica de Cotopaxi, en calidad de Director de Tesis con el Tema: “OBTENCIÓN DE CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS UTILIZANDO FILGRASTIM® A 3 DIFERENTES DOSIS 5, 10 Y 15 MICROGRAMOS EN CUYES (CAVIA PORCELLUS)” propuesto por el alumno Edison Gustavo Sánchez Cepeda presento el Aval Correspondiente de este trabajo de tesis de grado.

.....

Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

DIRECTOR DE TESIS

Latacunga, Octubre del 2015

CARTA DE APROBACIÓN

DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Nosotros, Dra. Patricia Marcela Andrade Aulestia, Mg., Dr. Edwin Orlando Pino Panchi, Mg., y Dr. Luis Alonso Chicaíza Sánchez, Mg.; catedráticos y miembros del tribunal del trabajo de tesis: “OBTENCIÓN DE CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS UTILIZANDO FILGRASTIM® A TRES DIFERENTES DOSIS 5, 10 Y 15 MICROGRAMOS EN CUYES (CAVIA PORCELLUS)” propuesto por el alumno Edison Gustavo Sánchez Cepeda, presentamos el Aval Correspondiente de este trabajo de tesis.

Atentamente;

Dra. Patricia Marcela Andrade Aulestia, Mg.

.....

PRESIDENTA DEL TRIBUNAL

Dr. Edwin Orlando Pino Panchi, Mg.

.....

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Luis Alonso Chicaíza Sánchez, Mg.

.....

MIEMBRO OPOSITOR

AGRADECIMIENTOS

A Dios; porque con su gracia y bendición nos permite día con día amar lo que se forja y el que nos ayuda siempre a levantarnos con más fuerza en cada caída.

A mi Madre, por ser mi amiga y compañera de lucha que me ha ayudado a crecer, gracias por estar siempre conmigo en todo momento. Gracias por la paciencia que ha tenido para enseñarme y por el amor que me brinda día a día. A mis hermanos; que con su apoyo me han enseñado a salir adelante. Gracias por compartir sus vidas, pero gracias por enseñarme el valor de la humildad y hablar siempre con la verdad.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi, institución noble que nos formó académicamente y que hoy dejamos para desempeñarnos en el campo laboral.

Un inmenso reconocimiento merece por el interés mostrado en mi trabajo y las sugerencias recibidas del Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso, con el que me encuentro en deuda por la confianza y el ánimo de seguir creciendo cada día. Además un especial e infinito agradecimiento al Dr. Manuel García Herreros PhD., y al Dr. Diego Medina Valarezo por su apoyo y colaboración incondicional.

A los miembros de tribunal de tesis Dra. Marcela Andrade Aulestia. Mg., Dr. Edwin Pino Panchi, Mg., y Dr. Alonso Chicaíza Sánchez, Mg. de corazón muchas gracias.

Una profunda gratitud por el apoyo y la predisposición a Lcda. Margoth Barrionuevo, Dr. Jorge Espinoza, Dr. Nelson Cabrera, Dr. Pedro Aponte PhD., y Dr. Patricio Sandoval profesionales de Laboratorios AGROCALIDAD Quito-Ecuador y, en especial a su director Dr. Luis Ramos PhD., por la apertura hacia los tesisistas de todas las universidades del país.

Edison Gustavo Sánchez Cepeda.

DEDICATORIA

A mi padre José David Sánchez que desde el cielo guía mis pasos; y con inmenso amor para mi madre Pilar Sánchez Cepeda, que hizo todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano en todo momento a pesar de las adversidades que en el camino juntos encontrábamos.

A mi abuela Delia María Cepeda, que con cada consejo brindado generaba sabiduría para tomar la decisión correcta y a ti sobrina Emily la luz de vida que generas con tan sólo una sonrisa.

A mis hermanos Esmeralda Sánchez, Xavier Sánchez, David Sánchez, Pamela Cruz Sánchez y demás familia en general por el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de cada año de mi carrera universitaria.

A mis maestros que en este andar por la vida, influyeron con sus lecciones y experiencias en formarme como una persona de bien y preparada para los retos de la vida, a todos y cada uno de ellos les dedico cada una de estas páginas de mi tesis.

Edison Gustavo Sánchez Cepeda.

ÍNDICE DE PRELIMINARES

PORTADA.....	i
AUTORIA.....	ii
CARTA DE APROBACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS.....	iii
CARTA DE APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIA.....	vi
ÍNDICE DE PRELIMINARES.....	vii
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiv
ÍNDICE DE TABLAS.....	xvi
RESUMEN.....	xix
SUMMARY.....	xx
INTRODUCCIÓN.....	xxi
HIPÓTESIS.....	xii
OBJETIVO GENERAL.....	xii
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	xii

ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	1
1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	1
1.1. Células madre.....	1
1.1.1. Definición.....	1
1.1.2. Clasificación.....	2
1.1.2.1. Por el potencial de diferenciación.....	2
1.1.2.1.1. Células madre totipotentes.....	2
1.1.2.1.2. Células madre pluripotentes.....	2
1.1.2.1.3. Células madre multipotentes.....	2
1.1.2.1.4. Células madre unipotentes.....	3
1.1.2.2. Por el origen.....	3
1.1.2.2.1. Células madre embrionarias.....	3
1.1.2.2.2. Células madre germinales.....	3
1.1.2.2.3. Células madre fetales.....	4
1.1.2.2.4. Células madre adultas.....	4
1.1.2.2.5. Células madre hematopoyéticas.....	4
1.2. Sistema hematopoyético.....	5
1.2.1. Hematopoyesis.....	5
1.2.2. Mielopoyesis.....	7
1.2.2.1. Eritropoyesis.....	7
1.2.2.1.1. Eritrocitos.....	8
1.2.2.2. Granulomonopoyesis.....	9
1.2.2.2.1. Neutrófilos.....	11
1.2.2.2.2. Eosinófilos.....	11
1.2.2.2.3. Basófilos.....	12
1.2.2.2.4. Monocitos.....	12
1.2.2.3. Megacariopoyesis.....	12

1.2.2.3.1. <i>Plaquetas</i>	13
1.2.3. Linfopoyesis.....	13
1.2.3.1. Linfocitos.....	15
1.3. Filgrastim®.....	15
1.3.1. Descripción.....	15
1.3.2. Composición.....	16
1.3.3. Farmacocinética.....	17
1.3.4. Dosis y administración.....	18
1.3.5. Aplicaciones terapéuticas.....	18
1.4. El Cuy.....	18
1.4.1. Generalidades.....	18
1.4.2. Características fisiológicas del cuy.....	19
1.4.3. Componentes hemáticos del cuy.....	20
1.4.4. Características de las células sanguíneas del cuy.....	22
1.5. Estudios clínicos en células madre.....	23
1.5.1. Estudios de células madre en medicina veterinaria.....	24
1.5.2. Estudios de células madre en medicina veterinaria en Ecuador....	26
CAPÍTULO II.....	27
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
2.1. Ubicación.....	27
2.1.1. Situación geográfica.....	28
2.1.2. Condiciones meteorológicas.....	28
2.2. Recursos materiales.....	29
2.2.1. Materiales de campo.....	29
2.2.2. Materiales de laboratorio.....	30
2.2.3. Materiales de oficina.....	30
2.2.4. Insumos.....	31
2.3. Tipos de investigación.....	31
2.3.1. Descriptiva.....	31
2.3.2. Exploratoria.....	31
2.4. Metodología.....	32
2.4.1. Métodos.....	32

2.4.1.1. Inductivo.....	32
2.4.1.2. Experimental.....	32
2.4.2. Técnicas.....	33
2.4.2.1. Observación.....	33
2.4.2.1.1. <i>Observación directa</i>	33
2.4.2.1.2. <i>Observación de campo</i>	33
2.5. Diseño experimental.....	34
2.5.1. Tratamientos.....	34
2.5.2. Unidades experimentales.....	35
2.6. Manejo del ensayo.....	36
2.6.1. Preparación del lugar.....	36
2.6.2. Distribución de las unidades experimentales.....	36
2.6.3. Manejo nutricional.....	37
2.6.4. Toma de muestras sanguíneas.....	38
2.6.5. Aplicación del filgrastim®.....	39
2.6.6. Procesamiento de muestras de sanguíneas.....	40
2.7. Determinación de las variables.....	41
2.7.1. Análisis hemático.....	42
CAPÍTULO III.....	43
3. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	43
3.1. Leucocitos.....	44
3.2. Eritrocitos.....	54
3.3. Granulocitos.....	64
3.4. Neutrófilos.....	74
3.5. Cayados.....	86
3.6. Plaquetas.....	97
3.7. Análisis de costos.....	107
CONCLUSIONES.....	108
RECOMENDACIONES.....	109
BIBLIOGRAFÍA.....	110

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. COMPOSICIÓN DEL FILGRASTIM.....	16
CUADRO 2. DATOS BIOLÓGICOS DEL CUY.....	19
CUADRO 3. DATOS FISIOLÓGICOS DEL CUY.....	20
CUADRO 4. VALORES HEMATOLÓGICOS DEL CUY.....	21
CUADRO 5. ESQUEMA DE ANÁLISIS DE VARIANZA (ADEVA).....	34
CUADRO 6. RESUMEN DE TRATAMIENTOS.....	35
CUADRO 7. SIMBOLOGÍA DE IDENTIFICACIÓN.....	37
CUADRO 8. CONVERSIÓN DE DOSIS DE FILGRASTIM.....	40
CUADRO 9. RELACIÓN DE VARIABLES.....	41
CUADRO 10. VALOR ABSOLUTO LEUCOCITOS DÍA 1 ($\times 10^9$ cels. /L)....	44
CUADRO 11. VALOR ABSOLUTO LEUCOCITOS DÍA 2 ($\times 10^9$ cels. /L)....	46
CUADRO 12. VALOR ABSOLUTO LEUCOCITOS DÍA 3 ($\times 10^9$ cels. /L)....	48
CUADRO 13. VALOR ABSOLUTO LEUCOCITOS DÍA 4 ($\times 10^9$ cels. /L)....	50
CUADRO 14. VALOR ABSOLUTO LEUCOCITOS DÍA 5 ($\times 10^9$ cels. /L)....	52
CUADRO 15. VALOR ABSOLUTO ERITROCITOS DÍA 1 ($\times 10^{12}$ cels. /L)...	54
CUADRO 16. VALOR ABSOLUTO ERITROCITOS DÍA 2 ($\times 10^{12}$ cels. /L)...	56
CUADRO 17. VALOR ABSOLUTO ERITROCITOS DÍA 3 ($\times 10^{12}$ cels. /L)...	58
CUADRO 18. VALOR ABSOLUTO ERITROCITOS DÍA 4 ($\times 10^{12}$ cels. /L)...	60
CUADRO 19. VALOR ABSOLUTO ERITROCITOS DÍA 5 ($\times 10^{12}$ cels. /L)...	62
CUADRO 20. VALOR RELATIVO GRANULOCITOS DÍA 1 (%).....	64
CUADRO 21. VALOR RELATIVO GRANULOCITOS DÍA 2 (%).....	65

CUADRO 22. VALOR RELATIVO GRANULOCITOS DÍA 3 (%).....	68
CUADRO 23. VALOR RELATIVO GRANULOCITOS DÍA 4 (%).....	70
CUADRO 24. VALOR RELATIVO GRANULOCITOS DÍA 5 (%).....	72
CUADRO 25. VALOR RELATIVO NEUTRÓFILOS DÍA 1 (%).....	74
CUADRO 26. VALOR RELATIVO NEUTRÓFILOS DÍA 2 (%).....	76
CUADRO 27. VALOR RELATIVO NEUTRÓFILOS DÍA 3 (%).....	79
CUADRO 28. VALOR RELATIVO NEUTRÓFILOS DÍA 4 (%).....	81
CUADRO 29. VALOR RELATIVO NEUTRÓFILOS DÍA 5 (%).....	84
CUADRO 30. VALOR RELATIVO CAYADOS DÍA 1 (%).....	86
CUADRO 31. VALOR RELATIVO CAYADOS DÍA 2 (%).....	88
CUADRO 32. VALOR RELATIVO CAYADOS DÍA 3 (%).....	90
CUADRO 33. VALOR RELATIVO CAYADOS DÍA 4 (%).....	92
CUADRO 34. VALOR RELATIVO CAYADOS DÍA 5 (%).....	94
CUADRO 35. VALOR ABSOLUTO PLAQUETAS DÍA 1 ($\times 10^9$ cels. /L).....	97
CUADRO 36. VALOR ABSOLUTO PLAQUETAS DÍA 2 ($\times 10^9$ cels. /L).....	99
CUADRO 37. VALOR ABSOLUTO PLAQUETAS DÍA 3 ($\times 10^9$ cels. /L).....	101
CUADRO 38. VALOR ABSOLUTO PLAQUETAS DÍA 4 ($\times 10^9$ cels. /L).....	103
CUADRO 39. VALOR ABSOLUTO PLAQUETAS DÍA 5 ($\times 10^9$ cels. /L).....	105

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. PROCESO DE FORMACIÓN DE LA SANGRE.....	5
FIGURA 2. ETAPAS DE LA ERITROPOYESIS.....	8
FIGURA 3. GRANULOPOYESIS.....	10
FIGURA 4. CÉLULAS SANGUÍNEAS DEL CUY.....	22

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. PROMEDIO LEUCOCITOS DÍA 1 ($\times 10^9$ cels. /L).....	44
GRÁFICO 2. PROMEDIO LEUCOCITOS DÍA 2 ($\times 10^9$ cels. /L).....	46
GRÁFICO 3. PROMEDIO LEUCOCITOS DÍA 3 ($\times 10^9$ cels. /L).....	49
GRÁFICO 4. PROMEDIO LEUCOCITOS DÍA 4 ($\times 10^9$ cels. /L).....	50
GRÁFICO 5. PROMEDIO LEUCOCITOS DÍA 5 ($\times 10^9$ cels. /L).....	52
GRÁFICO 6. PROMEDIO ERITROCITOS DÍA 1 ($\times 10^{12}$ cels./L).....	54
GRÁFICO 7. PROMEDIO ERITROCITOS DÍA 2 ($\times 10^{12}$ cels./L).....	56
GRÁFICO 8. PROMEDIO ERITROCITOS DÍA 3 ($\times 10^{12}$ cels./L).....	58
GRÁFICO 9. PROMEDIO ERITROCITOS DÍA 4 ($\times 10^{12}$ cels./L).....	60
GRÁFICO 10. PROMEDIO ERITROCITOS DÍA 5 ($\times 10^{12}$ cels./L).....	62
GRÁFICO 11. PROMEDIO GRANULOCITOS DÍA 1 (%).....	64
GRÁFICO 12. PROMEDIO GRANULOCITOS DÍA 2 (%).....	66
GRÁFICO 13. PROMEDIO GRANULOCITOS DÍA 3 (%).....	68
GRÁFICO 14. PROMEDIO GRANULOCITOS DÍA 4 (%).....	71
GRÁFICO 15. PROMEDIO GRANULOCITOS DÍA 5 (%).....	72
GRÁFICO 16. PROMEDIO NEUTRÓFILOS DÍA 1 (%).....	74
GRÁFICO 17. PROMEDIO NEUTRÓFILOS DÍA 2 (%).....	77
GRÁFICO 18. PROMEDIO NEUTRÓFILOS DÍA 3 (%).....	79
GRÁFICO 19. PROMEDIO NEUTRÓFILOS DÍA 4 (%).....	82
GRÁFICO 20. PROMEDIO NEUTRÓFILOS DÍA 5 (%).....	84

GRÁFICO 21. PROMEDIO CAYADOS DÍA 1 (%).....	87
GRÁFICO 22. PROMEDIO CAYADOS DÍA 2 (%).....	88
GRÁFICO 23. PROMEDIO CAYADOS DÍA 3 (%).....	90
GRÁFICO 24. PROMEDIO CAYADOS DÍA 4 (%).....	93
GRÁFICO 25. PROMEDIO CAYADOS DÍA 5 (%).....	95
GRÁFICO 26. PROMEDIO PLAQUETAS DÍA 1 ($\times 10^9$ cels. /L).....	97
GRÁFICO 27. PROMEDIO PLAQUETAS DÍA 2 ($\times 10^9$ cels. /L).....	100
GRÁFICO 28. PROMEDIO PLAQUETAS DÍA 3 ($\times 10^9$ cels. /L).....	102
GRÁFICO 29. PROMEDIO PLAQUETAS DÍA 4 ($\times 10^9$ cels. /L).....	103
GRÁFICO 30. PROMEDIO PLAQUETAS DÍA 5 ($\times 10^9$ cels. /L).....	105

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. ADEVA VALORACIÓN DE LEUCOCITOS DÍA 1 ($\times 10^9$ cels./L).....	45
TABLA 2. ADEVA VALORACIÓN DE LEUCOCITOS DÍA 2 ($\times 10^9$ cels. /L).....	47
TABLA 3. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE LEUCOCITOS DÍA 2.....	47
TABLA 4. ADEVA VALORACIÓN DE LEUCOCITOS DÍA 3 ($\times 10^9$ cels. /L).....	49
TABLA 5. ADEVA VALORACIÓN DE LEUCOCITOS DÍA 4 ($\times 10^9$ cels. /L).....	51
TABLA 6. ADEVA VALORACIÓN DE LEUCOCITOS DIA 5 ($\times 10^9$ cels. /L).....	53
TABLA 7. ADEVA VALORACIÓN DE ERITROCITOS DIA 1 ($\times 10^{12}$ cels./L).....	55
TABLA 8. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE ERITROCITOS DÍA 1.....	55
TABLA 9. ADEVA VALORACIÓN DE ERITROCITOS DÍA 2 ($\times 10^{12}$ cels. /L).....	57
TABLA 10. ADEVA VALORACIÓN DE ERITROCITOS DÍA 3 ($\times 10^{12}$ cels. /L).....	59
TABLA 11. ADEVA VALORACIÓN DE ERITROCITOS DIA 4 ($\times 10^{12}$ cels./L).....	61
TABLA 12. ADEVA VALORACIÓN DE ERITROCITOS DÍA 5 ($\times 10^{12}$ cels./L).....	63

TABLA 13. ADEVA VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DÍA 1 (%).....	65
TABLA 14. ADEVA VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DÍA 2 (%).....	66
TABLA 15. PRUEBA DUNCAN VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DÍA 2.....	67
TABLA 16. ADEVA VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DÍA 3 (%).....	69
TABLA 17. PRUEBA DUNCAN VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DÍA3.....	69
TABLA 18. ADEVA VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DIA 4 (%).....	71
TABLA 19. ADEVA VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DÍA 5 (%).....	73
TABLA 20. ADEVA VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 1 (%).....	75
TABLA 21. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 1.....	75
TABLA 22. ADEVA VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 2 (%).....	77
TABLA 23. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 2	78
TABLA 24. ADEVA VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 3 (%).....	80
TABLA 25. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 3.....	80
TABLA 26. ADEVA VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 4 (%).....	82
TABLA 27. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 4.....	83
TABLA 28. ADEVA VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 5 (%).....	85
TABLA 29. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 5.....	85

TABLA 30. ADEVA VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 1 (%).....	87
TABLA 31. ADEVA VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 2 (%).....	89
TABLA 32. ADEVA VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 3 (%).....	91
TABLA 33. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 3.....	91
TABLA 34. ADEVA VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 4 (%).....	93
TABLA 35. ADEVA VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 5 (%).....	95
TABLA 36. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 5.....	96
TABLA 37. ADEVA VALORACIÓN DE PLAQUETAS DÍA 1 (x10 ⁹ cels./L).....	98
TABLA 38. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE PLAQUETAS DÍA 1.....	98
TABLA 39. ADEVA VALORACIÓN DE PLAQUETAS DÍA 2 (x10 ⁹ cels./L).....	100
TABLA 40. ADEVA VALORACIÓN DE PLAQUETAS DÍA 3 (x10 ⁹ cels./L).....	102
TABLA 41. ADEVA VALORACIÓN DE PLAQUETAS DÍA 4 (x10 ⁹ cels./L).....	104
TABLA 42. ADEVA VALORACIÓN DE PLAQUETAS DÍA 5 (x10 ⁹ cels./L).....	106
TABLA 43. ANÁLISIS DE COSTOS GENERAL.....	107
TABLA 44. ANÁLISIS DE COSTOS GENERAL.....	107

RESUMEN

La presente investigación se realizó en la provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga, Parroquia Eloy Alfaro, barrio Salache Grande en el Centro de Experimentación y Producción Salache (CEYPSA) de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (UA-CAREN). El objetivo de éste estudio fue analizar el efecto del filgrastim® (r-Met-Hu-G-CSF) en la producción y movilización de células madre hematopoyéticas (CMH) en la especie cobaya, para ello se llevó a cabo la aplicación de tres diferentes dosis 5 µg, 10 µg, y 15 µg de filgrastim comparado con un grupo control (testigo); en cada tratamiento se trabajó con 5 cobayos de línea Perú, de 2 meses de edad, peso de 800-1000 gr. y sexo macho. Se aplicaron las dosis establecidas vía subcutánea durante 4 días consecutivos con intervalos de 24 horas. Se tomaron muestras de sangre antes de cada aplicación durante 5 días seguidos para la interpretación hemática con respecto a los parámetros del hemograma. El tipo de investigación fue descriptiva y exploratoria, en el que se utilizó los métodos inductivo y experimental con la técnica de observación (directa y de campo). Se tomaron los parámetros de la serie roja: glóbulos rojos “eritrocitos” (GR); parámetros de la serie blanca: leucocitos “glóbulos blancos” (LEU); granulocitos (GRA); neutrófilos (NEU); cayados (CAY); y el parámetro plaquetario: plaquetas “trombocitos” (PLAQ). El tratamiento con filgrastim® para la producción y movilización de CMH no ejerció ningún efecto significativo en el parámetro hemático de la serie roja (GR) ($p \geq 0,05$). Sin embargo la producción y movilización de CMH fue satisfactoria con referencia a los parámetros hemáticos de la serie blanca respecto al control (LEU, GRA y CAY) ($p \leq 0,05$). Además, se establece que la producción y movilización de CMH no ejerció efecto significativo en la serie plaquetaria (PLAQ) ($p \geq 0,05$). Finalmente el filgrastim® no sería un tratamiento de elección adecuado en la producción respecto a los NEU; pero moviliza CMH con una sola aplicación, así mismo T2 refleja la máxima movilización de CMH.

Palabras clave: células madre hematopoyéticas, cobayo, filgrastim®.

SUMMARY

This research was conducted at Cotopaxi province, Latacunga Canton, Eloy Alfaro Parish, Salache Grande neighborhood in Academic Salache Experimental Center (CEASA) of the Academic Unit of Agricultural Sciences and Natural Resources (UACAREN). The objective of this study was analyze the effect of filgrastim® (r-Met-Hu-G-CSF) in the production and mobilization of hematopoietic stem cells (HSCs) in the guinea pig species, for it was conducted applying three different dosage of 5 mg, 10 mg, and 15 mg of filgrastim® compared with a control group (control) in each treatment was work with Peru line at 5 male guinea pigs, two months old, weighing 800-1000 grams. The limits specified subcutaneously for 4 consecutive days at 24 hour intervals were applied. Blood samples before each application were taken for 5 days in a row for blood borne interpretation regarding parameters. The research was descriptive and exploratory, in which the inductive and experimental methods with observation technique (direct field) was used. The red cell parameters were taken: "erythrocytes" (RBC); white series parameters: leukocytes "white blood" (LEU); granulocytes (GRA); neutrophils (NEU); hockey sticks (CAY); and platelet parameter: "thrombocytes" platelets (PLAQ). Filgrastim® treatment for the production and mobilization of HSCs did not exert any significant effect on red blood cell parameter series (GR) ($p \geq 0.05$). However the production and mobilization of CMH was satisfactory with reference to the white blood parameters over the control series (LEU, GRA and CAY) ($p \leq 0.05$). In addition, it states that the production and mobilization of HSCs did not exert significant effect on platelet number (PLAQ) ($p \geq 0.05$). Filgrastim® finally not is an appropriate treatment choice in regard to production NEU; but it mobilizes CMH with a single application, likewise T2 reflects the maximum mobilization of HSCs.

Keywords: hematopoietic stem cells, guinea pig, filgrastim®.

INTRODUCCIÓN

Las investigaciones en el campo de la terapia celular en animales dentro del Ecuador se encuentran aún en desarrollo en relación a aquellos procedimientos terapéuticos que se vienen realizando en humanos a nivel mundial; como es el uso de células madre adultas que genera una elevada efectividad para diversos tratamientos en enfermedades de características degenerativas que afectan al sistema hematológico. La mayoría de estudios se centran en la utilización de células madre embrionarias desde el inicio de los años 80 del siglo pasado y que se mantienen hasta el día de hoy. En los últimos años se ha producido un extraordinario avance en los conocimientos relacionados con diferentes ramas biomédicas, entre ellas, la biología celular, lo que ha dado un notable impulso a una nueva rama de la medicina denominada *medicina regenerativa*. (KÖRBLING, 2002)

Actualmente se han ampliado las fuentes de obtención de células madre hematopoyéticas (CMH) como células madre de sangre periférica (SP) y células madre de sangre de cordón umbilical (CU) o del hígado fetal. Las CMH mantienen la producción continua de progenitores celulares presentes en la sangre (leucocitos, eritrocitos y plaquetas) (VERFAILLIE, 2003). En la mayoría de los procedimientos de movilización, obtención, aislamiento y cultivos celulares se encuentran estandarizados en medicina humana mientras que en medicina veterinaria aún están es estudio. (ROSENTHAL, 2003)

Además la presente investigación pretende valorar y determinar los niveles de movilización de células madre hematopoyéticas en los cobayos (biomodelo). Los resultados que se obtienen dentro de éste estudio permiten tener un procedimiento terapéutico alternativo en patologías de interés veterinario y zootécnico, de ésta forma minimizar el uso indiscriminado de fármacos y buscando siempre el bienestar animal.

HIPÓTESIS

H₁.- Mediante la aplicación de tres diferentes dosis de filgrastim® se obtiene células madre hematopoyéticas de sangre periférica del cuy.

H₀.- Mediante la aplicación de tres diferentes dosis de filgrastim® no se obtiene células madre hematopoyéticas de sangre periférica del cuy

OBJETIVO GENERAL

- Obtener células madre hematopoyéticas en cuyes utilizando filgrastim® a tres diferentes dosis.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar y analizar los cambios producidos en los componentes celulares de la sangre entera recolectada pre y post tratamiento
- Identificar células madre hematopoyéticas movilizadas.
- Valorar el mejor tratamiento para la movilización de células madre hematopoyéticas en la especie cobaya.

CAPÍTULO I

1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

El presente capítulo detalla las características generales y clasificación de las células madre, así como en la especificidad en las células madre hematopoyéticas; definición y características del filgrastim (r-Met-Hu-G-CSF); generalidades, características fisiológicas y características hematológicas del cuy, ya que éste animal es una opción viable en el inicio de los estudios en células madre hematopoyéticas en el campo de la biomedicina veterinaria del país.

1.1. Células madre

1.1.1. Definición

Las células madre son células que se encuentran en todos los organismos multicelulares y que tienen la capacidad de dividirse (a través de la mitosis) y diferenciarse en diversos tipos de células especializadas, además de autorenovarse para producir más células madre. (HANS, 2007)

1.1.2. Clasificación

1.1.2.1. Por el potencial de diferenciación

1.1.2.1.1. Células madre totipotentes.

Son aquellas células que pueden crecer y formar un organismo completo, tanto los componentes embrionarios (como por ejemplo, las tres capas embrionarias, el linaje germinal y los tejidos que darán lugar al saco vitelino), como los extra embrionarios (como la placenta). Es decir, pueden formar todos los tipos celulares. (MITALPOV, y otros, 2009)

1.1.2.1.2. Células madre pluripotentes.

Son aquellas células que no pueden formar un organismo completo, pero sí cualquier otro tipo de célula correspondiente a los tres linajes embrionarios (endodermo, ectodermo, mesodermo), así como el germinal y el saco vitelino. (CAULFIELD, 2012)

1.1.2.1.3. Células madre multipotentes.

Son aquellas células que sólo pueden generar células de su misma capa o linaje de origen embrionario por ejemplo: una célula madre mesenquimal de médula ósea, al tener naturaleza mesodérmica, dará origen a células de esa capa como miocitos, adipocitos u osteocitos, entre otras. (FUCH, 2012)

1.1.2.1.4. Células madre unipotentes.

Se definen a aquellas células que serán capaces de diferenciarse al tipo celular del tejido donde residen para mantener la homeostasis del mismo. (BELTRÁN, 2012)

1.1.2.2. Por el origen

1.1.2.2.1. Células madre embrionarias.

Son consideradas pluripotentes ya que presentan la capacidad de diferenciarse a tejidos de las tres capas embrionarias. Tienen la capacidad de proliferar continuamente gracias a un perfil transcripcional único que las mantiene en un estado indiferenciado (FRISBIE, y otros, 2009).

1.1.2.2.2. Células madre germinales.

Son aquellas que se localizan en la cresta gonadal de los fetos. Este lugar es un esbozo de las gónadas y es donde tiene lugar la diferenciación de la línea germinal de óvulos y espermatozoides. Estas células son pluripotenciales y tienen una capacidad de diferenciación similar a las embrionarias (BERG, y otros, 2009).

1.1.2.2.3. Células madre fetales.

Se encuentran formando parte de los tejidos y órganos fetales como sangre, hígado y pulmón. Su potencial de diferenciación es similar al de las células adultas, aunque parecen mostrar mayor capacidad de expansión y diferenciación que éstas al encontrarse en un estado primitivo. (ROSOVA, y otros, 2008)

1.1.2.2.4. Células madre adultas.

Son las células órgano específicas, es decir, son multipotenciales, capaces de originar células adultas del tejido en el que se encuentran, y solo de ese tipo. Son muy usadas en terapia celular. (GONZÁLEZ, 2012)

1.1.2.2.5. Células madre hematopoyéticas.

Es aquella población celular que reside en la médula ósea de un individuo adulto y que es responsable del origen de todo el espectro de células sanguíneas maduras. Por lo tanto, una célula madre hematopoyética (CMH) puede ser definida como células clonogénicas que poseen la propiedad de renovarse a sí mismas, de proliferar y de diferenciarse hacia todos los tipos de células sanguíneas. (SÁEZ y PALOMO, 2005)

Se estima que el porcentaje de ellas en la medula ósea es del 1%, y en la sangre periférica del 0.01 al 0.1%. La identificación de las células madre hematopoyéticas no es fácil, ya que morfológicamente pueden ser indistinguibles de otras células de la

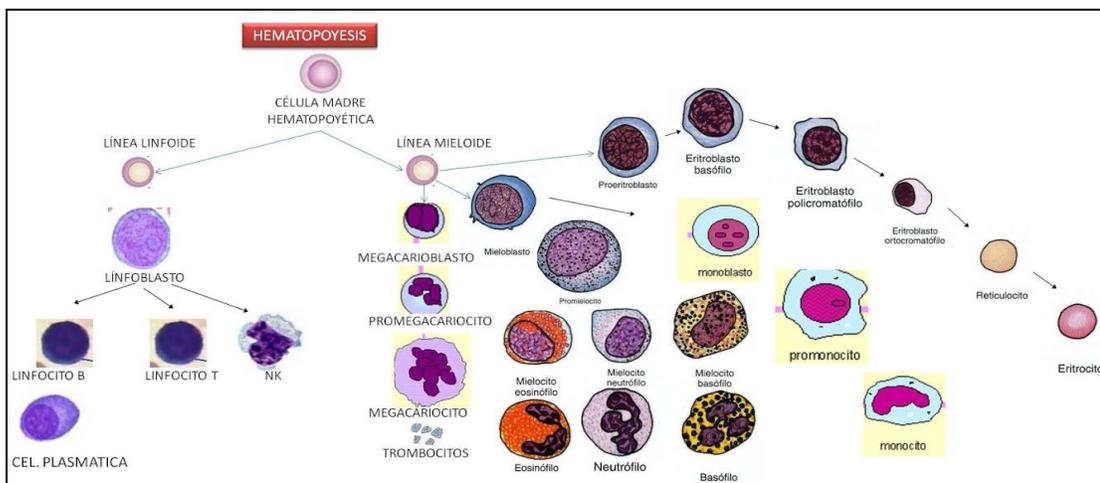
médula ósea o de la sangre periférica; por ello, para su identificación y cuantificación, es necesario recurrir a anticuerpos marcados con fluoresceína dirigidos contra sus antígenos de superficie, sobre todo el CD34, mediante citometría de flujo. (GÓMEZ y JAIME, 2012)

1.2. Sistema hematopoyético

1.2.1. Hematopoyesis

Es la producción de células de la sangre, un proceso complejo y sumamente regulado; ya que todas las células sanguíneas de la médula ósea surgen de una célula madre común. Esta célula madre multipotencial origina diferentes fases de células progenitoras, que, posteriormente se diferencian en células de la serie eritrocíticas, granulocíticas, megacariocíticas y agranulocíticas. El resultado final de este proceso es la emisión de eritrocitos, leucocitos y plaquetas al torrente sanguíneo. (REAGAN, 2010)

GRÁFICO 1. ESQUEMA DEL PROCESO DE FORMACIÓN DE LA SANGRE



Fuente: <http://medicinamiguellopez.blogspot.com/2013>

Las células progenitoras son irreconocibles morfológicamente; como la unidad formadora de brotes eritroides (UFB-E), que antecede a la unidad formadora de células eritroides (UFC-E). Las células progenitoras que dan origen a la unidad formadora de granulocitos y monocitos (UFC-GM) descienden de un precursor bipotencial, la unidad formadora de eritrocitos y granulocitos (UFC-EG).

En cultivo, la unidad formadora de brotes megacariocitos (UFB-Meg) antecede a la UFC-Meg y ambas tienen en común a la UFC-GEMM. Las células precursoras que se distinguen por sus características morfológicas y con la capacidad de duplicación se encuentran constituidas por eritroblastos, mieloblastos, monoblastos, megacarioblastos y linfoblastos. (RUIZ, 2009)

Las proteínas reguladoras de la hematopoyesis cumplen funciones específicas y otras con una función general como: eritrocitos (eritropoyetina), plaquetas (trombopoyetina), granulocitos (G-CSF y GM-CSF), monocitos (M-CSF y GM-CSF) e interleucinas son proteínas con funciones menos específicas que las de los factores señalados. (GÓMEZ y JAIME, 2012)

Las células de la sangre se dividen en dos grandes grupos: serie mieloide y serie linfoide. Las primeras comprenden a los granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos), monocitos, eritrocitos y trombocitos, mientras que las segundas comprenden a los linfocitos B, linfocitos T y células NK (Natural Killer). Las células mieloides son producidas a través de un proceso conocido como mielopoyesis, mientras que las linfoides son resultado de la linfopoyesis. (MAYANI, y otros, 2007)

1.2.2. Mielopoyesis

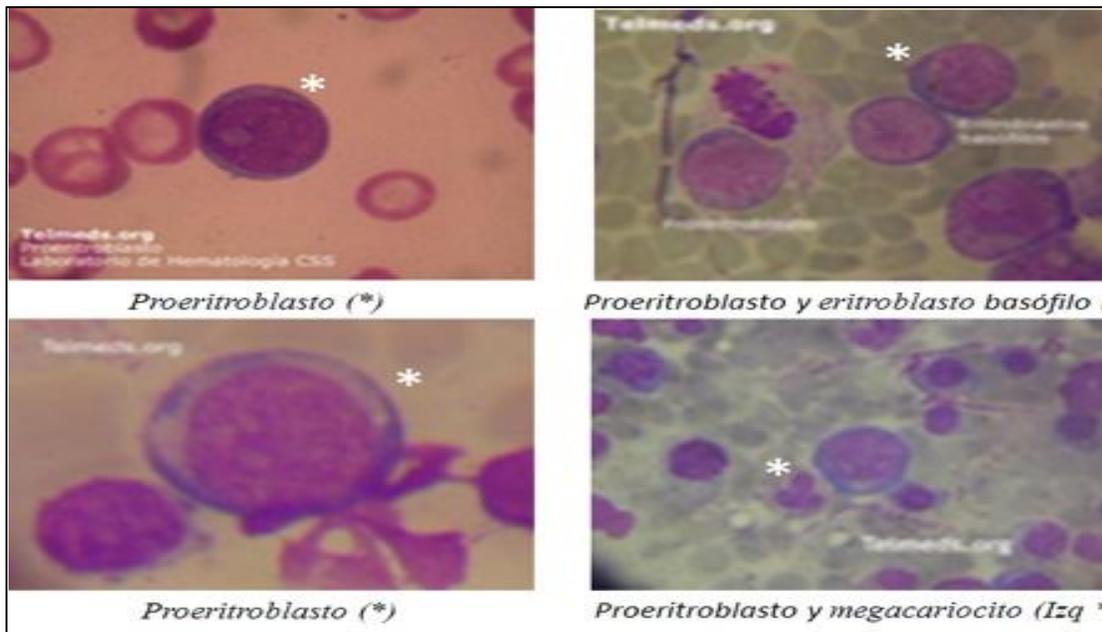
La mielopoyesis es el proceso que toma lugar dentro de la médula ósea, sitio en donde las células troncales hematopoyéticas dan lugar a los progenitores mieloides comunes (PMC). Los PMC son células con una alta capacidad proliferativa (activas en el ciclo celular), pero incapaces de auto-renovarse y cuyo potencial de diferenciación está restringido a linajes específicos. (QUESENBERRY, 2001)

Los PMC se diferencian en progenitores más específicos, tales como los progenitores granulo-monocíticos (PGM), y los progenitores eritroides-megacariocíticos (PEM). La maduración posterior en cada uno de los linajes hematopoyéticos está definida por dos procesos fundamentales: la pérdida definitiva del potencial de autorenovación y la adquisición de una identidad específica. (ROSENBAHUER, 2007)

1.2.2.1. Eritropoyesis

La eritropoyesis se produce en la médula ósea, en islotes alrededor de los macrófagos. El primer precursor del eritrocito reconocible morfológicamente es el rubriblasto una célula grande con cromatina granular gruesa al igual que el prorubricito. A continuación el rubricito más pequeño y con cromatina granular gruesa y citoplasma azul oscuro; en el desarrollo sigue el metarubricito ligeramente oval con cromatina condensada; el núcleo picnotico es expulsado de la célula para convertirse en un policromatófilo redondo y se vuelve menos azul y más rojo al madurar convertirse en eritrocito maduro. (REAGAN, 2010)

GRÁFICO 2. ETAPAS DE LA ERITROPOYESIS



Fuente: <http://www.telmeds.org/atlas/hematologia/serie-blanca/ontogenia-de-serie-granulopoyesis/2013>

1.2.2.1.1. Eritrocitos.

La principal función es transportar hemoglobina, una proteína intracelular que lleva oxígeno de los pulmones a los tejidos; son discos bicóncavos que en los mamíferos pierden su núcleo antes de penetrar a la circulación. Los eritrocitos en animales adultos se componen de 62 a 72 % de agua y casi 35% de sólidos; el otro 5 % lo constituyen proteínas, lípidos, vitaminas, glucosa, enzimas y minerales. El número promedio de eritrocitos en sangre es de 5 a 7 x 10¹² por litro; ésta cantidad varía mucho entre especies, dentro de especies (por las razas) y entre individuo (debido a edad o enfermedad). El promedio de vida en animales varía de 90 a 120 días. (RUCKEBUSH, 2001) (PALOMO y otros, 2005)

1.2.2.2. Granulomonopoyesis

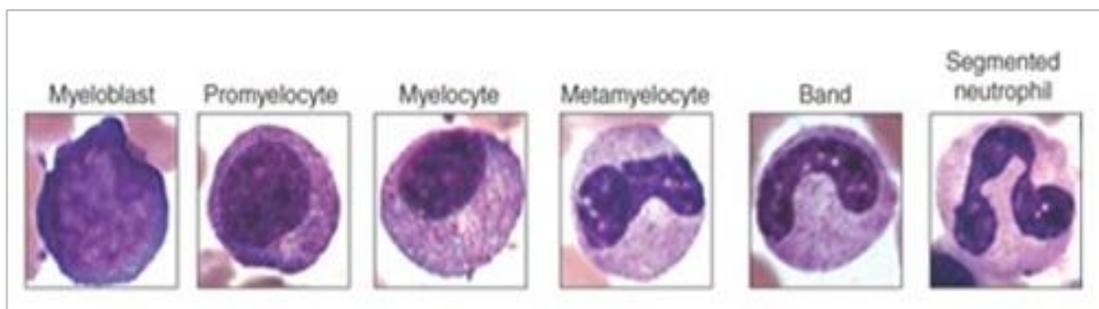
Los progenitores mieloides por su parte incluyen unidades formadoras de colonias granulomonocíticas (CFU-GM), que a su vez dan origen a unidades formadoras de colonias granulocíticas (CFU-G) y unidades formadoras de colonias monocíticas (CFU-M). Una vez encaminadas en la vía de diferenciación, las CFU-G dan lugar a mieloblastos, promielocitos, mielocitos, metamielocitos y células maduras (eosinófilos, neutrófilos y basófilos). Mientras que las CFU-M dan lugar a monoblastos, promonocitos, monocitos, y finalmente macrófagos. A lo largo de la diferenciación, las células de linaje mielóide son reguladas por un amplio número de citocinas entre las que se encuentran: el factor estimulador de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF), el factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF), el factor estimulador de colonias de monocitos (M-CSF), la interleucina-3 (IL-3) e interleucina-6 (IL-6) entre muchas otras. (NICOLA y COHEN, 2001)

De forma general en los animales, los cambios morfológicos que se producen en las células de la serie granulocítica mientras maduran incluyen ligera disminución en el tamaño, disminución de la relación núcleo-citoplasma, condensación nuclear progresiva, cambios en la forma nuclear y la aparición de gránulos citoplasmáticos. Los cambios de fondo citoplasma de color gris-azul a azul claro a casi incoloro en la progresión de mieloblastos a granulocitos maduros. (HARVEY, 2011)

Los mieloblastos son las primeras células reconocibles de la serie granulocítica; aparecen como grandes células redondas con núcleos redondos a ovalados. El contorno nuclear es regular y suave; la cromatina nuclear es finamente punteada, que

contiene uno o más nucléolos. El citoplasma suele ser moderadamente basófilos (gris-azul en color). Los promielocitos contienen pequeños gránulos primarios; visibles dentro del abundante citoplasma, con nucléolos que se pueden ver en algunos promielocitos y en otros no muestran estructura nucleolar. (JAIN, 1991; HARVEY, 2011)

GRÁFICO 3. GRANULOPOYESIS



Fuente: <http://www.telmeds.org/atlas/hematologia/serie-blanca/ontogenia-de-serie-granulopoyesis/2014>

Los mielocitos se distinguen por contener gránulos secundarios que caracterizan a los neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Se caracteriza por tener núcleos redondos pequeños por su condensación nuclear y citoplasma azul claro. Los mielocitos neutrófilos se caracteriza por su tinción neutral; mientras los mielocitos eosinófilos y basófilos se identifican por sus gránulos característicos. Los metamielocitos visualizan núcleos en forma de riñón; ya que las células precursoras no son capaces de dividirse. Los gránulos de los mielocitos pueden ser neutrófilo, eosinófilo, basófilo o en características a la tinción. (HARVEY, 2011)

Las células en banda poseen núcleos en forma de varillas delgadas con lado paralelo; muchas veces los núcleos son en forma de herradura o en forma de S. El núcleo ocupa dos tercios del diámetro de cualquier otra área de la célula. El color depende hacia el tipo de célula en el que se desarrollará. (HARVEY, 2011)

1.2.2.2.1. Neutrófilos.

Los neutrófilos, o leucocitos polimorfonucleares son aquellos que cumplen un papel vital en la defensa del organismo contra patógenos. Tiene un diámetro de aproximadamente 10-15 micrómetros (μm), con un núcleo que tiene entre tres y cinco lóbulos. El núcleo se tiñe de color púrpura oscuro y la cromatina agregada con un citoplasma rosa pálido. Además éstos están en el cuerpo en tres compartimientos: en la médula ósea, en la sangre y en el tejido. Los neutrófilos sobreviven de 1- 4 días en los tejidos normales, y en estados de enfermedad la supervivencia disminuye. (VILLIERS y BLCKWOOD, 2012)

1.2.2.2.2. Eosinófilos.

Existen en una proporción del 1% al 3-4% del número total de glóbulos blancos. Miden aproximadamente entre 10 a 12 μm . Sus núcleos son bilobulados, dos lóbulos unidos por un pequeño puente de cromatina. El citoplasma contiene gránulos de un color rosa intenso y escasos gránulos azurófilos (lisosomas). Los gránulos específicos contienen en su interior estructuras electro-densas en forma de cristales, denominados *internum*, rodeados por una sustancia transparente, el *externum* (sustancias sumamente eficaces en la destrucción de parásitos). (ROSS, 2007)

1.2.2.2.3. Basófilos.

El basófilo es más grande que el neutrófilo, con núcleo grande, ligeramente lobulado y en forma de cinta. Los basófilos están involucrados en las enfermedades alérgicas y en la respuesta inflamatoria de algunos parásitos. (LESTER y otros, 2005)

1.2.2.2.4. Monocitos.

Los monocitos son células más grandes que los neutrófilos; tiene un núcleo pleomórfico (redondo, oval, en forma de judía, bilobulado o multilobulado) con una cromatina reticulada y el citoplasma azul grisáceo con apariencia de cristal. (VILLIERS y BLCKWOOD, 2012)

Los precursores de los monocitos surgen de las células madre, los monoblastos son los primeros precursores que en lo posterior dan lugar a los promonocitos (célula grande con un núcleo oval); y en su etapa final de desarrollo dan origen a los monocitos. (REAGAN, 2010)

1.2.2.3. Megacariopoyesis

Los megacarioblastos son la génesis de las plaquetas que representa el 5 a 20% de la población megacariocítica en la médula ósea, es una célula mononuclear (18 μ m); luego se desarrolla a promegacariocito (20 μ m) tiene forma de herradura, citoplasma

es basófilo representa el 25% de la población megacariocítica en la médula ósea; dando lugar al megacariocito granular con (35 um) que representa el 56% (1000 a 5000 plaquetas) para madurar y dar lugar a las formas plaquetarias. (SÁEZ y PALOMO, 2005)

1.2.2.3.1. Plaquetas.

Las plaquetas son fragmentos pequeños anucleados, considerablemente de menos diámetro que los eritrocitos. El citoplasma es claro y de un gris pálido con numerosos gránulos rosa-púrpuras. (VILLIERS y BLCKWOOD, 2012)

1.2.3. Linfopoyesis

Es un proceso dinámico y complejo, el cual está determinado por combinaciones de factores intrínsecos y microambientales que guían la diferenciación de progenitores linfoides a partir de las células troncales hematopoyéticas, para la producción de las células del linaje linfoide como: linfocitos B, linfocitos T, celulas natural killer (NK) y células dendríticas. (BABA y otros, 2004)

La diferenciación del linaje linfoide progresa gradualmente en la médula ósea; desde progenitores muy primitivos con potencialidades múltiples hasta precursores restringidos, que pierden opciones de diferenciación en paralelo con una ganancia de funciones especializadas. (BABA y otros, 2004)

El desarrollo de las células B (linfocitos B) en la ontogenia, puede ocurrir en el epiplón y el hígado fetal, mientras que después del nacimiento se confina primordialmente a la médula ósea. (BUSSLINGER, 2004).

El desarrollo de las células T (linfocitos T) es mantenida por la importación periódica de progenitores hematopoyéticos a través de la corriente sanguínea, y aunque a múltiples progenitores se les reconoce cierto potencial para generar células T, no todos ellos tienen la propiedad de establecerse en el timo, debido a que este órgano no produce progenitores de renovación autólogo. (BHANDOOOLA y otros, 2003)

Las células asesinas naturales o natural killer (NK) pueden producirse en múltiples sitios. En el feto se han encontrado precursores en médula ósea, hígado, timo, bazo y ganglios linfáticos, mientras que en niños y adultos la médula ósea es el sitio predominante de su desarrollo a partir de progenitores linfoides. (DISANTO y VOSSHENRICH, 2007)

El origen hematopoyético de poblaciones de células dendríticas en el humano es poco definido; sin embargo, la expresión de algunos genes asociados al linaje linfóide en las células plasmacitoides dendríticas (pDCs) sugiere una afiliación linfóide en la médula ósea. (DONTJE y otros, 2006)

1.2.3.1. Linfocitos.

Los linfocitos en la sangre periférica han sido descritos en base a su tamaño y granularidad de su citoplasma. Los linfocitos pequeños son los más comunes, con un tamaño entre 4-10 μm ; y su citoplasma se ve frecuentemente como un anillo periférico alrededor del núcleo. (LESTER y otros, 2005)

Dos tipos funcionalmente diferentes de linfocitos han sido descritos: *los linfocitos T* o timo dependientes y *los linfocitos B* o médula ósea dependientes. Aproximadamente el 70 a 80% de los linfocitos en sangre periférica muestran características de células T. Además almacenan y conservan la "memoria inmunológica" (células T de memoria); al ser activadas son las células efectoras o ejecutoras (NK) de la inmunidad celular a la respuesta inflamatoria. (MARCANO, 2014)

1.3. Filgrastim

1.3.1. Descripción

El Filgrastim es el factor estimulante de colonias granulocíticas (r-Met-Hu-G-CSF), producido por tecnología de ADN recombinante. Es una proteína de 175 aminoácidos, con un peso molecular de 18.800 Daltons. El Filgrastim se produce a través de ingeniería genética, por la inserción del gen humano del G-CSF a una bacteria, la *Escherichia coli*. (BAGÓ S.A., 2010)

La molécula de filgrastim fue clonada y purificada entre 1984 y 1986. Esta fue purificada por primera vez de medio condicionado de placenta por Nicola y Metcalf en el año de 1986; y en la actualidad se está generando con tecnología de DNA recombinante en *Escherichia coli*. Este fármaco es utilizado habitualmente en pacientes con tratamiento de quimioterapia, pacientes que padecen enfermedades degenerativas e inmunosupresoras y además para realizar autotransplantes de sangre con células madre hematopoyéticas. (GUTIÉRREZ, 2015)

1.3.2. Composición

El G-CSF viene en presentaciones como: frasco ampolla ó jeringa prellenada.

CUADRO 1. COMPOSICIÓN DEL FILGRASTIM

FILGEN	30 MUI
Filgrastim (r-Met-Hu-G-CSF)	300 µg
Acetato de sodio	0,8203 mg
Sorbitol	50 mg
Polisorbato 80	0,004 %
Manitol	50 mg
Ácido acético c.s.p.	pH=4
Agua para inyectables c.s.p.	1ml

Fuente: Laboratorios Bagó S.A./2010

1.3.3. Farmacocinética

El filgrastim es rápidamente absorbido después de la administración subcutánea; los niveles en sangre aumentan a lo largo de 2-8 horas obteniéndose las concentraciones máximas a las 4-5 horas. El filgrastim se distribuye ampliamente sobre todo en la médula ósea, glándulas adrenales, riñones e hígado. La distribución del filgrastim es de 5-8 minutos y una vida media de eliminación de unas 3.5 horas. (OZER, 2000)

El efecto clínico del filgrastim en la movilización de las CMH desde MO a SP, es motivo de investigación, se han fundamentado diferentes teorías que explican el fenómeno como la producción de enzimas por parte de los neutrófilos (Elastasa de Neutrófilos (NE), Catepsina G (CG), Metaloproteinasa-9 (MMP-9) y Metaloproteinasa-2 (MMP-2) las que rompen la unión de las (CMH) con las moléculas de adhesión (VLA-4/ VCAM-1 o CD106) que las mantienen unidas al nicho en la médula ósea. (BELLO, y otros, 2009). Posteriormente se produce señales químicas (CXCL12 o SDF-1 y su receptor CXCR4), que genera la unión específica del G-CSF con su receptor (G-CSFR), que induce la señalización interna de las proteínas y consecuentemente su movilización de la médula ósea a sangre periférica. (BELLO y otros, 2009)

Sin embargo la movilización exitosa de CMH de MO a SP depende de factores como: la edad, estados patológicos, el grado de compromiso de la MO, la carga de quimioterapia y/o radioterapia recibida, además de la intensidad del tratamiento. Además se reportan que es posible que también dependan de las características del producto utilizado (RAJAN, y otros, 2011).

1.3.4. Dosis y administración

El esquema de administración del medicamento en humanos varía dependiendo de la enfermedad que se esté tratando, y el rango de dosis que se maneja es de 4 - 69 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ por vía intravenosa ó subcutánea, siendo de la aplicación subcutánea la menor dosis en relación a la intravenosa. (MORSTYN, 1998; GUTIERREZ, 20015)

1.3.5. Aplicaciones terapéuticas

El filgrastim se usa para reducir las probabilidades de infección en las personas que presentan ciertos tipos de cáncer y están en tratamiento con medicamentos de quimioterapia que podrían disminuir el número de neutrófilos, en quienes se someten a trasplantes de médula ósea y en individuos con neutropenia crónica grave (afección en la que hay pocos neutrófilos en la sangre). (ASHP, 2010)

1.4. El Cuy

1.4.1. Generalidades

El cuy es originario de Sudamérica y ha crecido en la zona andina de Perú, Bolivia, Ecuador y Colombia. Se estableció como la principal fuente de alimentación de los aborígenes hace por lo menos 3000 años. Fue llevado a Europa en el siglo XVI, como animal ornamental por los conquistadores, donde se intensificó su crianza y de allí

regreso a América, después de la conquista los españoles y mestizos se dedicaron a su cuidado. En la actualidad el cuy se cría en las zonas rurales y suburbanas de estos países. (CASTRO, 2002)

El nombre cuy que recibe este roedor en los países interandinos, proviene seguramente de la imitación del sonido natural producido por el animal; aunque en diferentes lugares se pronuncia de distinto modo: cuy, cuye, cúí, coy, curi, coic, cuize (CADENA, 2000). También es conocido con los nombres de cobayo, curi, conejillo de indias y en países de habla inglesa como guinea pig. (GÓMEZ, 2007). Se diferencian tres tipos de cuyes en la clasificación según la línea, tales como: Perú, Andina e Inti. (GUERRA, 2009)

1.4.2. Características fisiológicas del cuy

CUADRO 2. DATOS BIOLÓGICOS DEL CUY

Esperanza de vida	4-8años
Peso corporal adulto macho	850-1200g
Peso corporal adulto hembra	700-900g
Ingesta media diaria de agua	10ml/100g
Hibernación	No

Fuente: http://www.vetjg.com/shared/artic_peq_medicina_cobaya/2014

CUADRO 3. DATOS FISOLÓGICOS DEL CUY

Frecuencia respiratoria	90-150rpm
Frecuencia cardiaca	230-310rpm
Temperatura rectal	37.2-39.5°C
Volumen sanguíneo	75ml/Kg.

Fuente: http://www.vetjg.com/shared/artic_peq_medicina_cobaya/2014

1.4.3. Componentes hemáticos del cuy

El rango de referencia para el volumen total del cobayo es de 40- 80 ml/kg de peso y éste varía con la edad. El mayor volumen de sangre se informó al nacer, seguido de una disminución constante de volumen de sangre hasta que los animales pesan aproximadamente 900 gramos. El valor del plasma sanguíneo son de 39 ml/kg de peso y con un rango en hemoglobina de 11-17 g/dl. (MARK y otros, 2012)

Los leucocitos circulantes que predominan en los cobayos sanos es el linfocito. En contraste con el conejo, los basófilos son raramente observados. Células Kurloff pueden comprender de 3 a 4% del diferencial de leucocitos. Hay pocas publicaciones sobre cambios en el leucograma de cobayas con enfermedades de origen natural. Los valores de eritrocitos del cobayo con el de otras especies son más grandes en tamaño y más bajo en número (CONSTABLE, 1963; LABOKLIN, 2015).

CUADRO 4. VALORES HEMATOLÓGICOS DEL CUY

Valor Hematocrito	39-55%
Recuento de Eritrocitos	4-6 x10 ¹² cels./L
Concentración de Hemoglobina	117-169 g/L
Recuento de Leucocitos	2-14 x10 ⁹ cels./L
Neutrófilos	12- 62 %
Linfocitos	28-84 %
Eosinófilos	0-15%
Monocitos	0-9 %
Basófilos	0-2%
Cayados	0-1 %
Plaquetas	273-745 x10 ⁹ cels./L

Fuente:http://www.laboklin.de/pdf/en/aktuell/lab_akt_0910_en.pdf/2009

1.4.4. Características de las células sanguíneas del cuy

Los linfocitos son las células sanguíneas que circulan en mayor cantidad por el torrente sanguíneo del cobayo. Los linfocitos son pequeños (7-9 μm) y grandes (11-20 μm) de apariencia similar al de otras especies, con un núcleo redondo oscuro rodeado por una ligera banda de citoplasma. Los eritrocitos en el cobayo tienen un diámetro referencial de 6.6 - 7.9 μm y ocasionalmente células pequeñas de 3.5 μm . Las plaquetas en el cobayo miden aproximadamente de 2-3 micras de longitud, forma irregular con una coloración transparente en la periferia y oscura en su interior. (KITAGAKI, 2005; MARK y otros, 2012)

GRÁFICO 4. CÉLULAS SANGUÍNEAS DEL CUY

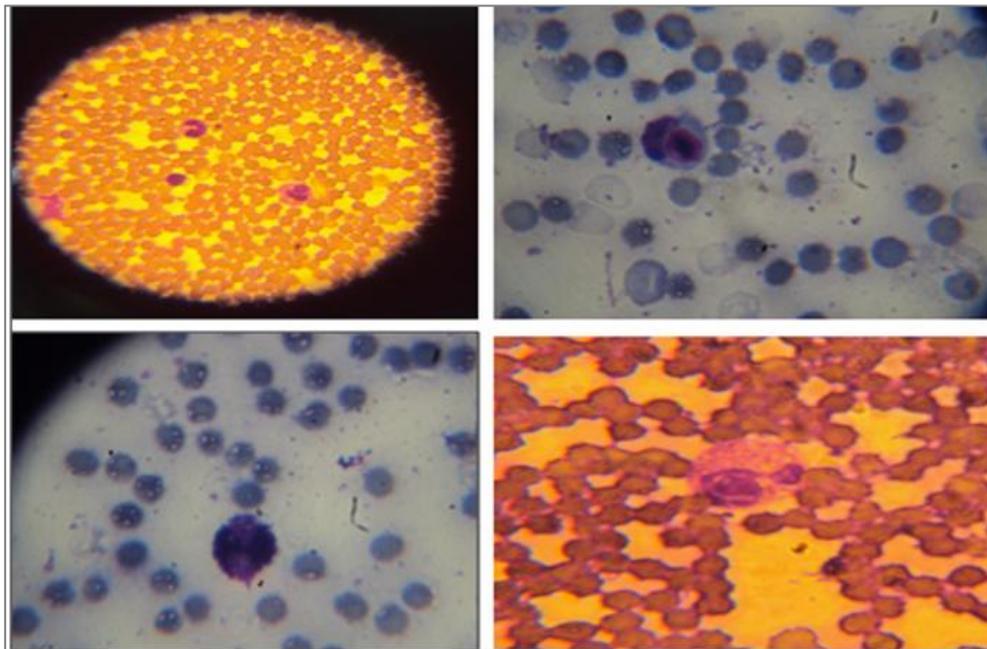


Ilustración: Sup. Izq: Cayado, Neutrófilo, Lingocito/ Sup. D. Kurloff/ Inf. Izq. Basófilo/ Inf. D. Eosinófilo/ Glóbulos rojos/

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Los neutrófilos son también conocidos como heterófilos o pseudoeosinófilos por las características que ejerce la tinción en su estructura. Los neutrófilos en el cobayo miden de 10 – 12 μm de diámetro con gránulos azurófilo y ligero citoplasma transparente. El núcleo contiene ligera cromatina de color púrpura y puede contener de 5 o más segmentaciones. Los basófilos son de similar tamaño que los neutrófilos (10-12 micras), con núcleo lobulado de color púrpura y granulaciones citoplasmáticas oscuras. (FELDMAN, 2000; MARK y otros, 2012)

Los monocitos son las células más grandes de la serie blanca (15-20 μm); tiene un núcleo ovalado con poca cromatina y de forma variable rodeado por citoplasma azul oscuro. Los eosinófilos miden entre 10-15 μm de diámetro son ligeramente más grandes que los neutrófilos. Los eosinófilos tienen un núcleo lobulado con 2-3 segmentaciones y gránulos brillantes de color anaranjado en el citoplasma (JAIN, 2004; MARK y otros, 2012).

1.5. Estudios clínicos en células madre

Después de la investigación de algunos trabajos sobre métodos de obtención de células madre se puso énfasis en los estudios de células madre hematopoyéticas, los mismos que se refieren a varias publicaciones en medicina humana como de las principales especies de interés veterinario y pecuario.

Existe un gran número de protocolos in vivo e in vitro que se utilizan para obtener y caracterizar progenitores hematopoyéticos. En los años sesenta Till y Mc Culloch describe uno de los primeros ensayos in vivo realizado en el ratón; considerados como los primeros trasplantes de MO.

En 1989 el grupo de investigadores de Hal E. Broxmeye, sostiene que la sangre de cordón umbilical como una importante fuente de células madre, como alternativa a la de MO. (GUTMAN, 2010)

Se estableció la obtención por liposucción un número más elevado de células madre para el trasplante autólogo en el tratamiento de la patología fistulosa ano rectal en pacientes con enfermedad de Crohn en el Centro de investigación Genetrix. (GARCÍA, 2002)

Además en estudios se informó la obtención y cultivo de células madre a partir de sangre de cordón umbilical y médula ósea en humanos (AREVALO, 2007). Así mismo en una investigación (GAYTÁN, 2011) presentó el método de obtención de células madre de sangre de cordón umbilical en humanos. Con respecto (JIMÉNEZ, 2011) se llevó a cabo la obtención de células madre a partir de la pulpa dental de una persona posterior a la extracción del tercer molar.

1.5.1. Estudios de células madre en medicina veterinaria

Los estudios comenzaron en 1957 con los trabajos de Ed. Thomas con trasplante de médula ósea que le valieron el Premio Nobel de Medicina en 1990. En los años 70: Friedstein describió por primera vez la presencia de células adherentes en la médula ósea capaces de originar hueso y cartílago. A lo largo de los 80 se fueron caracterizando estas células y el propio Friedstein en 1987 demuestra in vitro sus propiedades (proliferación, autorrenovación y multipotencialidad), y las denomina por primera vez como célula troncal estromal o célula madre mesenquimal y la diferencia de las células madre hematopoyéticas. (MOHANTY, 2014)

Los inicios de las investigaciones con células madre se empezó con el proceso que consistía en aspirar médula ósea del esternón de equinos y aislar células madre mesenquimales. HERTHEL, 2002. Incluso en el mismo año (HARMAN, 2002) se reporta la obtención de células madre de tejido adiposo del equino (aspira y procesa 15-20 gr. de grasa); y refleja como fuente abundante de células progenitoras para fines terapéuticos en animales de competencia. (BENEDETTI, 2014)

Células troncales mesenquimales (CTM) fueron aisladas de médula ósea felina y la frecuencia de esas células fue 1 en 4.7×10^4 a 1 en 5.9×10^5 células del total de células aisladas (MARTIN y otros, 2002); posteriormente se obtuvo y caracterizó CTM de médula ósea de perro. (NEGRO y otros, 2007)

Con los años también se realizó el aislamiento y el cultivo en la especie canina a partir de tejido adiposo; es por el momento el procedimiento más utilizado, dada su facilidad de extracción y capacidad proliferativa (LEE, KIM y CHOI, 2004). (SÁNCHEZ y otros, 2012)

Los estudios del desarrollo y diferenciación de células musculares y adiposas en las especies pecuarias se enfocan principalmente a sus precursores celulares inmediatos, las células satélite y los pre-adipocitos (HAUSMAN y otros, 2009; DODSON y otro, 2010) o bien al desarrollo y expresión génica de estos tejidos durante el periodo fetal (DAVOLI y otros, 2011) y posnatal (ROPKA–MOLIK y otros, 2011). Los estudios son escasos en pollos caracterizaron CTM aisladas de MO de pollo. (KHATRI y otros, 2009) En bovinos, (COLLEONI y otros, 2005) realizan el aislamiento de CMM. (PÉREZ y otros, 2012)

1.5.2. Estudios de células madre en medicina veterinaria en Ecuador

Se informa la investigación sobre los efectos obstétricos y neonatales que afectan en la recolección de células madre de hematopoyéticas de cordón umbilical en humanos. (AGUIRRE, 2007). Además se reporta la obtención de células madre hematopoyéticas del bovino para el tratamiento de leucosis en la provincia de Cotopaxi; en el que se concluye que el tratamiento no es eficaz para dicha enfermedad. (GUTIERREZ, 2015)

De todo lo anterior; la mayoría de estudios se encuentran basados en medicina humana abordando todos los espacios en los que tiene referencia la medicina celular pero aún los estudios son mínimos. Mientras tanto en medicina veterinaria los estudios se centran en obtención y aplicaciones clínicas con células madre mesenquimales; de ahí que las investigaciones de células madre hematopoyéticas es un campo aún en estudio.

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

En este capítulo se muestra una breve descripción del lugar donde se ejecutó la investigación, materiales y métodos utilizados, la distribución de las unidades experimentales, diseño experimental y el análisis estadístico aplicado, durante el desarrollo y finalización del ensayo.

2.1. Ubicación

La presente investigación se realizó en la provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga, parroquia Eloy Alfaro; en el Centro de Experimentación y Producción Salache (CEYPSA) de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recurso Naturales (UA-CAREN). El experimento tuvo un período de duración de dos meses en los cuales se realizó el trabajo de campo, la obtención y procesamiento de resultados.

2.1.1. Situación geográfica

- Provincia: Cotopaxi
- Cantón: Latacunga
- Dirección: Barrio Salache Grande
- Lugar del ensayo: UA-CAREN (Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales) / CEYPSA (Centro de Experimentación y Producción Salache)

2.1.2. Condiciones meteorológicas

- Temperatura máxima: 20,9 °C.
- Temperatura mínimo: 8,7 °C.
- Temperatura promedio: 14,8 °C.
- Humedad relativa: 78%
- Altitud: 2725 msnm
- Latitud: 00° 59' 57"
- Longitud: 78° 37' 14"

Fuente: Estación Meteorológica CEYPSA/COTOPAXI/Diciembre2014

2.2. Recursos materiales

2.2.1. Materiales de campo

- Agujas (26 G x ½”)
- Balanza
- Bisturí
- Termo de refrigeración
- Galpón de alojamiento
- Gasas
- Gel refrigerante
- Gradillas
- Guantes
- Jeringas (1ml)
- Jeringas de (3ml)
- Manta de sujeción
- Máquina de pelo
- Mascarillas
- Overol
- Papel higiénico
- Termómetro

2.2.2. Materiales de laboratorio

- Aceite de inmersión
- Analizador hemático (Human Count 30)
- Centrífuga (5424 Eppendorf)
- Guantes de manejo
- Micropipeta
- Microscopio (Human Scope)
- Porta objetos
- Tinción Wright
- Tubos de 1 ml (Minicollect con EDTA)
- Tubos Eppendorf

2.2.3. Materiales de oficina

- Calculadora
- Cámara de fotos
- Cuaderno de notas
- Esféros
- Hojas de papel bond
- Hojas de registros
- Computadora portátil
- Tijera

2.2.4. Insumos

- Alcohol
- Cicatrizante spray
- Clorhexidina (1,5%)
- Dextrosa al 5 %
- Filgrastim® (r-Met-Hu-G-CSF)
- Gelofusine (500 ml)
- Heparina sódica
- Lidocaína
- Yodo povidona

2.3. Tipo de investigación

2.3.1. Descriptiva

La investigación descriptiva nos permitió reconocer algunos fenómenos o eventos que se dieron en los parámetros hemáticos de las unidades experimentales antes y posterior a la aplicación del filgrastim.

2.3.2. Exploratoria

La investigación exploratoria generó la recopilación de datos específicos que ayudaron para la realización de la investigación; ya que es aún un tema muy poco abordado, generando información vital para investigaciones más rigurosas.

2.4. Metodología

2.4.1. Métodos

2.4.1.1. Inductivo

El método inductivo parte de hechos particulares a conclusiones generales, está relacionado con la experimentación (AULESTIA, 2010). Es decir las experiencias que se adquirió en el ensayo de obtención de células madre hematopoyéticas utilizando filgrastim® a tres diferentes dosis 5, 10 y 15 microgramos en cuyes (*Cavia porcellus*); se las integró en base a la teoría y generó al respecto conclusiones finales.

2.4.1.2. Experimental

El método utilizado fue experimental, el cual se utilizó para el diagnóstico de la relación variable independiente con las variables dependientes; basándose en la metodología científica. Con este método se recopiló datos para medir y comparar el comportamiento de los parámetros hemáticos del grupo testigo con la de los grupos experimentales.

2.4.2. Técnicas

2.4.2.1. Observación

Es un procedimiento importante en la investigación científica y sirvió para lograr resultados de los objetivos planteados dentro de la investigación. Ésta técnica ayudó en la recopilación de información; y en el diagnóstico de los acontecimientos sobresalientes de la investigación de stem cells (células madre).

2.4.2.1.1. *Observación directa*

La observación directa generó una relación entre el investigador y el objeto de la investigación (stem cells); lo que permitió obtener resultados primarios, originales e inéditos.

2.4.2.1.2. *Observación de campo*

La observación de campo permitió captar los fenómenos que se manifiestan en el lugar de los hechos; desde la preparación de los animales, aplicación del filgrastim y la obtención de las muestras para ser analizadas.

2.5. Diseño experimental

Para la presente investigación se utilizó el diseño completamente al azar (DCA), con: cuatro tratamientos y cinco unidades experimentales por tratamiento; dando un total de 20 unidades en la investigación.

CUADRO 5. ESQUEMA DE ANALISIS DE VARIANZA (ADEVA)

F de V.	G. L.
TOTAL	19
TRATAMIENTOS	3
ERROR EXP.	16

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

2.5.1. Tratamientos

Se estableció la inoculación del factor movilizador de colonias granulocíticas “Filgrastim”, en tres diferentes dosis dentro de los tratamiento definidos como: Tratamiento 1 (T1/ 5 µg. de Filgrastim®), Tratamiento 2 (T2/10 µg. de Filgrastim®), Tratamiento 3 (T3/15 µg. de Filgrastim®) y el Tratamiento 4 (T4/ Testigo) con 5 unidades experimentales.

CUADRO 6. RESUMEN DE TRATAMIENTOS

Tratamientos	N° de Cobayos	R1	R2	R3	R4
T1	5	5 µg. Filgrastim®	5 µg. Filgrastim®	5 µg. Filgrastim®	5 µg. Filgrastim®
T2	5	10 µg. Filgrastim®	10 µg. Filgrastim®	10 µg. Filgrastim®	10 µg. Filgrastim®
T3	5	15 µg. Filgrastim®	15 µg. Filgrastim®	15 µg. Filgrastim®	15 µg. Filgrastim®
T4 (Testigo)	5	0 µg. Filgrastim®	0 µg. Filgrastim®	0 µg. Filgrastim®	0 µg. Filgrastim®

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

2.5.2. Unidades experimentales

La unidad experimental se conformó por cuatro pozas con 5 animales (cuyes machos enteros de dos meses de edad, con pesos entre 800-1000 gramos); para lo que se utilizaron 20 animales de la línea Perú, que fueron adquiridos en el Centro de Experimentación y Producción Salache (CEYPSA) de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (UA-CAREN) de la Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC).

2.6. Manejo del ensayo

2.6.1. Preparación del lugar

- Se adecuó el lugar de la investigación para la estancia de los animales, tomando en consideración todas las medidas de seguridad biológica (limpieza, desinfección físico-química) y de restricción de ingreso.
- Se acondicionó cuatro pozas mixtas temporales (cemento y madera) con las siguientes medidas 0.60 m. de ancho x 0.75 m. de largo x 0.50 m de alto; se utilizó tablas madera como división.
- Se limpió las pozas en su totalidad más la adición de cal viva para la desinfección; luego se adecuó camas de viruta en cada una de las pozas para la absorción de orines y heces.
- El lugar del ensayo se rotuló debidamente y cada poza se identificó con el número de tratamiento específico y dosis de aplicación del fármaco.

2.6.2. Distribución de las unidades experimentales

- Se adquirió 20 cuyes machos, con dos meses de edad, línea Perú, pesos de entre 800 a 1000 gramos y con buen estado sanitario.
- Se identificó los animales con símbolos temporales en la parte del lomo con tintura de azul violeta; después se realizó el pesaje inicial de cada unidad experimental y se registró los datos en hojas preestablecidas.

- Se distribuyó 5 unidades experimentales en cada una de las pozas. Los animales pasaron 7 días en periodo de cuarentena.

CUADRO 7. SIMBOLOGÍA DE IDENTIFICACIÓN

IDENTIFICACIÓN	
N° DE COBAYO	SIMBOLOGÍA (LOMO)
1	+
2	I
3	X
4	•
5	—

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

2.6.3. Manejo nutricional

- Se empleó alfalfa para la alimentación de las unidades experimentales durante el ensayo en dos horarios; en la mañana (9:00 am) y en la tarde (16:00 pm).

2.6.4. Toma de muestras sanguíneas

- Se inculó heparina sódica (500 UI) a cada unidad experimental. La dosis promedio que se aplicó fue de 0.07 ml.; referencial de la dosis de animales de compañía (70 UI/kg de peso). La aplicación de la heparina se realizó a la misma hora (7:00 am) durante los días del ensayo.
- La heparina sódica se inyectó vía subcutánea con jeringas de insulina (1 ml) a cada animal de cada tratamiento; debido al rápido tiempo de coagulación en esa especie. Se determinó un tiempo de espera de 15 minutos post inoculación de heparina sódica para la extracción de la muestra de sangre. Se estableció la aplicación en cinco puntos específicos del lado derecho del lomo desde craneal a caudal.
- Posteriormente se aplicó 0.5 ml de anestésico local (lidocaína) entre los espacios interdigitales de la mano, vía subcutánea. Los animales fueron rasurados previamente el lugar de obtención de muestra de sangre.
- El lugar de obtención de la muestra de sangre se desinfectó con alcohol al 70%, clorhexidina al 1.5% y yodo povidona 125 mg/ml.
- La muestra de sangre se tomó por exanguineación dérmica. El método consistió en realizar una pequeña incisión a nivel subcutáneo entre el espacio interdigital de la mano.
- La muestra de sangre se recolectó por 5 días seguidos, antes de la aplicación de las dosis de filgrastim® en tubos mini collect con anticoagulante (EDTA).

- Posterior se homogenizó la muestra para evitar la formación de coágulos sanguíneos en el interior y se rotuló los tubos con los datos de cada animal, tratamiento y fecha de obtención.
- El total de las muestras se colocó en la gradilla y permanecieron a temperatura ambiente por unos minutos; luego se las colocó en el termo de refrigeración para el envío al laboratorio.

2.6.5. Aplicación del filgrastim®

- El filgrastim® (r-Met-Hu-G-CSF) se conservó en temperaturas entre 2 a 8 °C dentro del termo de refrigeración con los otros materiales (Dextrosa al 5 % y jeringas de 1 ml). Cada jeringa de 1 ml de solución contiene 300 µg. de filgrastim®.
- La dosis de filgrastim® se formuló en base a los 5 animales de cada tratamiento (T1= 25 µg., T2=50 µg. y T3=75 µg.).
- Se tomó la dosis establecida de filgrastim® en una jeringa de insulina (1 ml) y se homogenizó con solución dextrosa al 5% como establece el fabricante, éste proceso evitó la rápida sedimentación de los componentes del fármaco.
- La dosis de aplicación del filgrastim® fue de 200 µl. para cada animal, en cada tratamiento con su dosis exacta. Se aplicó cada 24 horas, durante 4 días seguidos posterior a la toma de muestra de sangre.
- La vía de aplicación fue subcutánea y se realizó en cuatro puntos específicos del lado izquierdo del lomo desde craneal a caudal.

CUADRO 8. CONVERSIÓN DE DOSIS DE FILGRASTIM®

Tratamientos (µg.)	Conversión (5 animales)	Dosis Filgrastim® (µl.)	Solución Dextrosa (µl.)	Total Solución (µl.)	Dosis de Aplicación (µl.)
T1 (5 µg.)	1000 µl---300 µg. x-----25 µg.	83,35	916,65	1000 (1ml)	200 µl (0,20 ml)
T2 (10 µg.)	1000 µl---300 µg. x-----50 µg.	166,65	833,35	1000 (1ml)	200 µl (0,20 ml)
T3 (15 µg.)	1000 µl---300 µg. x-----75 µg.	250	750	1000 (1ml)	200 µl (0,20 ml)

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

2.6.6. Procesamiento de muestras sanguíneas

- Se transportó hacia el laboratorio las muestras que fueron tomadas de las unidades experimentales en el termo de refrigeración; debidamente identificadas y se mantuvo la cadena de frío con una temperatura de 2-8 °C.
- En el laboratorio se procedió al procesamiento de las muestras de sangre; se trasladó la muestra hacia tubos Eppendorf® para el análisis en el Contador hemático (Human Count 30).
- Se configuró el contador hemático con los valores hemáticos del cuy; así mismo los valores que generó fueron valores absolutos de la serie roja, serie blanca (leucocitos, eritrocitos, granulocitos) y serie plaquetaria.

- Para el conteo de valores relativos se realizó el frotis de cada muestra sanguínea; en el cual se efectuó la tinción con solución Wright y se utilizó el microscopio (Human Scope) con lente de 40x y 100 x con el que se identificó células sanguíneas de la serie blanca inmaduras y adultas.
- Se realizó la separación de células madre hematopoyéticas (CMH) de sangre periférica; el proceso consistió en centrifugar las muestras sanguíneas a 2500 r.p.m. durante 5 minutos; luego con una micropipeta se tomó todo el plasma y se dejó la sedimentación (parte soluble de la sangre); después se agregó solución gelofusine semejante a la cantidad sedimentada.
- Posterior se realizó la segunda centrifugación y se identificó un halo blanco (componentes de la serie blanca) entre la solución gelofusine y la sedimentación (parte soluble de la sangre).

2.7. Determinación de las variables

CUADRO 9. RELACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE	VARIABLES DEPENDIENTES	INDICADORES
Filgrastim (5 µg., 10 µg., 15 µg.)	Leucocitos	$\times 10^9$ cels./L
	Granulocitos	%
	Neutrófilos	%
	Cayados	%
	Eritrocitos	$\times 10^{12}$ cels./L
	Plaquetas	$\times 10^9$ cels./L

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

2.7.1. Análisis hemático

Los análisis hemáticos del cuy se los realizó en el Laboratorio de Patología del Área de Diagnóstico Animal, perteneciente a la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (AGROCALIDAD). Las muestras de sangre se procesaron durante 5 días del ensayo cada 24 horas. Los resultados de los análisis se encuentran incluidos en los Anexos 1, 2, 3, 4 y 5.

CAPITULO III

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

A continuación en el presente capítulo se detalla los resultados obtenidos en la fase de experimentación, los análisis estadísticos y los esquemas gráficos por cada uno de los tratamientos; representados de la siguiente manera: Tratamiento 1 (T1=aplicación 5 μ g. de Filgrastim®); Tratamiento 2 (T2=aplicación 10 μ g. de Filgrastim®); Tratamiento 3 (T3=aplicación 15 μ g. de Filgrastim®); Tratamiento 4 (T4=Tratamiento testigo). De ésta manera permitió determinar su influencia en las variables de los componentes sanguíneos del cuy, como: leucocitos, eritrocitos, granulocitos, neutrófilos, cayados y plaquetas.

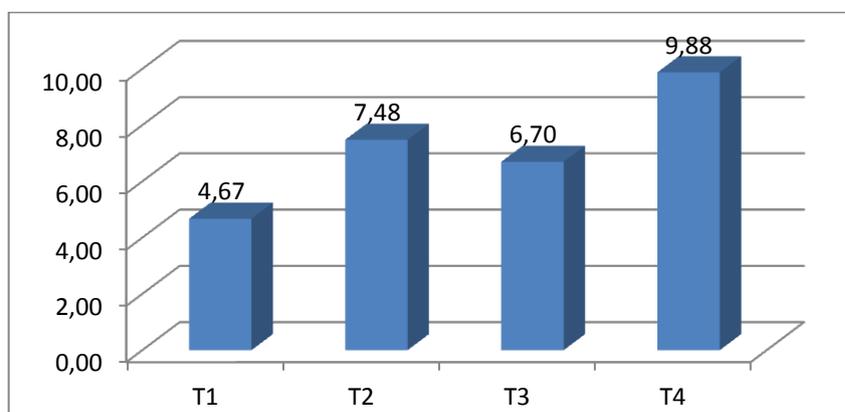
3.1. Leucocitos

CUADRO 10. VALOR ABSOLUTO LEUCOCITOS DÍA 1 ($\times 10^9$ cels. /L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	6,65	2,66	8,25	7,86
2	4,22	11,2	10,55	11,48
3	4,27	14,64	3,26	9,13
4	5,02	2,27	4,76	13,49
5	3,21	6,63	6,66	7,43
PROMEDIO	4,67	7,48	6,70	9,88

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 1. PROMEDIO LEUCOCITOS DÍA 1 ($\times 10^9$ cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se describen en el Cuadro 10 y Gráfico 1; el promedio de valores hemáticos del grupo leucocito en el primer día (pre aplicación del filgrastim®). Se interpretan diferencias y valores disminuidos de la serie blanca (leucocito): T1 ($4,67 \times 10^9/L$), T2 ($7,48 \times 10^9/L$), T3 ($6,70 \times 10^9/L$); con relación al valor numérico del grupo testigo: T4 ($9,88 \times 10^9/L$). Estos datos indican que al inicio del ensayo el grupo leucocito se encuentra dentro del valor normal referencial ($2- 14 \times 10^9/l$).

TABLA 1. ADEVA VALORACIÓN DE LEUCOCITOS DÍA 1 ($\times 10^9$ cels. /L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	251,22			
Tratamiento	3	69,42	23,14	2,04	0,1493
Error	16	181,80	11,36		
CV= 46,93					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

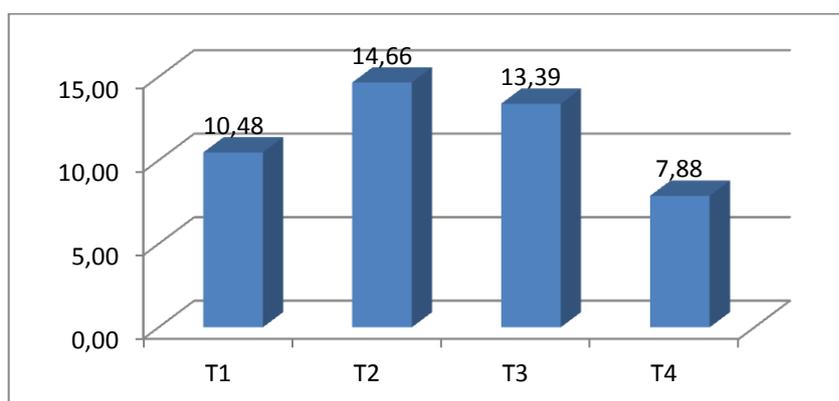
Se presenta en la Tabla 1; el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático leucocitos en el primer día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,1493$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p \geq 0,05$), con un Coeficiente de variación (CV) de 46,93 que demuestra un incremento en la varianza total de los resultados, pero que se mantienen dentro de los rangos normales de leucocitos tal cómo lo describe (HEIN Y HARTMANN, 2003) en el estudio de los parámetros sanguíneos del cobayo.

CUADRO 11. VALOR ABSOLUTO LEUCOCITOS DÍA 2 ($\times 10^9$ cels. /L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	12,61	14,03	12,3	7,52
2	11,73	15,87	16,8	6,44
3	4,27	19,65	14,7	9,05
4	12,26	9,24	5,86	9,21
5	11,51	14,52	17,31	7,17
PROMEDIO	10,48	14,66	13,39	7,88

FUENTE: SÁNCHEZ, Edison, 2015

GRÁFICO 2. PROMEDIO LEUCOCITOS DÍA 2 ($\times 10^9$ cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se expresan en el Cuadro 11 y Gráfico 2; el promedio de valores absolutos de leucocitos en el segundo día (post primera aplicación de filgrastim®). Se reconoce un incremento notable en la movilización celular de leucocitos en comparación con los datos del día 1; siendo el grupo T2 ($14,66 \times 10^9$ /L) con la mayor movilización celular, seguido de T3 ($13,39 \times 10^9$ /L) con elevado promedio y T1 ($10,48 \times 10^9$ /L), que en comparación al grupo testigo T4 ($7,88 \times 10^9$ /L) es el que presenta menor movilización celular. El grupo testigo presenta una ligera variación pero se encuentra en la media de los rangos normales ($2-14 \times 10^9$ /l).

TABLA 2. ADEVA VALORACIÓN DE LEUCOCITOS DÍA 2 ($\times 10^9$ cels. /L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	336,05			
Tratamiento	3	138,55	46,18	3,74	0,0328
Error	16	197,49	12,34		
CV= 30,28					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

A continuación en la Tabla 2, se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “leucocitos”. El valor estadístico en el segundo día refleja como resultado $p=0,032$; se considera que existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), con CV de 30,28 que demuestra un incremento en la varianza de los resultados pero con una ligera disminución en relación al día anterior que refleja el manejo en el ensayo. Los valores demuestran el incremento en la movilización de células leucocíticas de médula ósea a sangre periférica debido a la influencia del filgrastim® en el organismo del cuy; como lo describe (GUTIÉRREZ, 2015) en el que detalla el incremento de leucocitos en sangre periférica en una primera aplicación de filgrastim al utilizarlo en bovinos; y se sustentan en el estudio (WALBERG Y LOAR, 2004) en el que indican que valores de leucocitos raramente sobrepasan el límite superior de los rangos normales en cobayos.

TABLA 3. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE LEUCOCITOS DÍA 2

Tratamientos	Medias	n	E.E.	*
4	7.88	5	1,57	A
1	10.48	5	1,57	A B
3	13.39	5	1,57	B
2	14.66	5	1,57	B

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

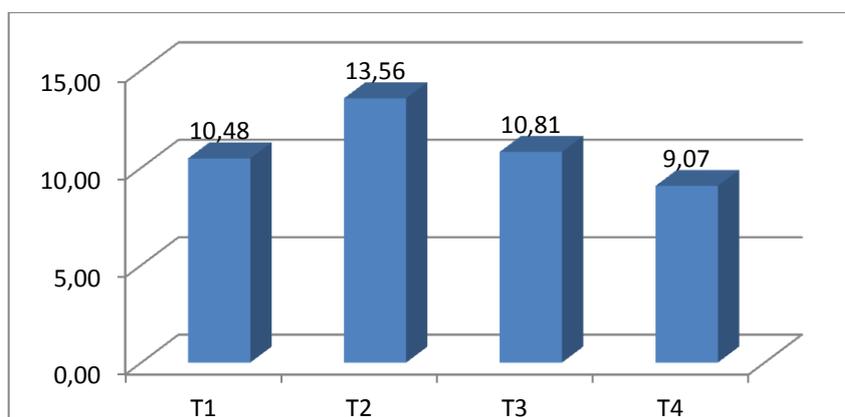
Se expone en la Tabla 3. Según la prueba de comparación de medias de Duncan letras iguales no presentan diferencia estadística mínima significativa; se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen dos rangos que están determinando diferencias particularmente entre los grupos T1AB y T4A respecto al grupo T2A T3B. Así, T4 no presenta diferencia estadística significativa con T1 (representado con la letra A); de igual forma T2 y T3 no representan una diferencia estadística significativa con T1 (representado con la letra B), concluyendo que el mejor resultado para la movilización de células leucocíticas a la primera aplicación de filgrastim® se registró en T2 (10 µg de filgrastim), mientras que en el T4 (testigo) se registró una menor movilización.

CUADRO 12. VALOR ABSOLUTO LEUCOCITOS DÍA 3 ($\times 10^9$ cels. /L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	11,85	13,6	11,16	10,28
2	13,22	12,69	11,84	7,1
3	12,56	20,33	11,76	10,12
4	7,35	7,81	5,23	8,66
5	7,4	13,36	14,07	9,18
PROMEDIO	10,48	13,56	10,81	9,07

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 3. PROMEDIO LEUCOCITOS DÍA 3 ($\times 10^9$ cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se describen en el Cuadro 11 y Gráfico 3; el promedio de valores absolutos de leucocitos en el en el tercer día (segunda aplicación de filgrastim®); en los que se mantiene el incremento en la movilización de leucocitos en los grupos: T2 ($13,56 \times 10^9$ /L) con la mayor movilización celular, seguido de T3 ($10,81 \times 10^9$ /L) y T1 ($10,48 \times 10^9$ /L), éstos últimos mantienen los valores ligeramente elevados en relación al valor numérico del grupo testigo: T4 ($9,07 \times 10^9$ /L). De tal manera que T2 comparado con el día anterior se mantiene como el tratamiento que movilizó mayor cantidad de células leucocíticas.

TABLA 4. ADEVA VALORACIÓN DE LEUCOCITOS DÍA 3 ($\times 10^9$ cels. /L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	216,09			
Tratamiento	3	52,92	17,64	1,73	0,2011
Error	16	163,17	10,20		
CV= 29,09					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

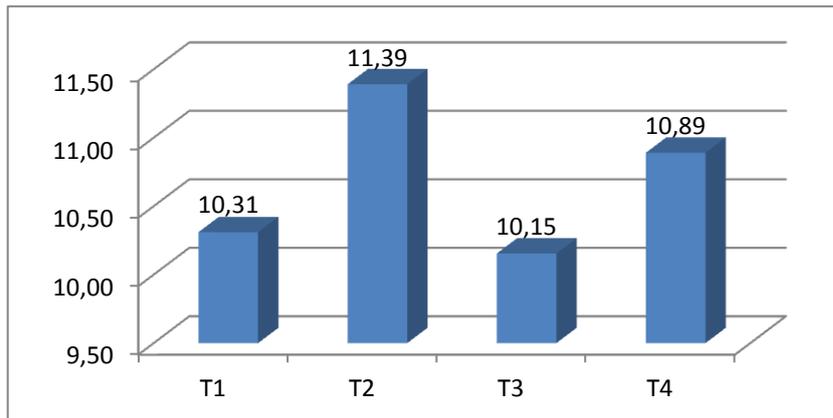
Se exhibe en la Tabla 4; el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “leucocitos” en el tercer día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,2011$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p=>0,05$), con un CV de 29,09 que demuestra una dispersión en la varianza total de resultados debido a la acción del filgrastim® en los valores de leucocitos en los cuyes; pero dentro de los rangos normales ($2-14 \times 10^9/l$) (KITAKAGI, 2005).

CUADRO 13. VALOR ABSOLUTO LEUCOCITOS DÍA 4 ($\times 10^9$ cels. /L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	7,87	10,3	11,73	13,67
2	12,34	11,91	7,9	9,43
3	17,4	14,77	16,39	10,45
4	6,34	5,68	3,77	10,27
5	7,6	14,29	10,98	10,63
PROMEDIO	10,31	11,39	10,15	10,89

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 4. PROMEDIO LEUCOCITOS DÍA 4 ($\times 10^9$ cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se informa en el Cuadro 13 y Gráfico 4; el promedio de valores absolutos de leucocitos en el cuarto día (tercera aplicación de filgrastim®); en los que se identifica disminución de los valores numéricos de leucocitos comparado con los datos del día anterior, así se describe que T2 ($11,39 \times 10^9/L$) mantiene ligera movilización celular y que tanto T1 ($10,31 \times 10^9/L$) y T3 ($10,15 \times 10^9/L$) se encuentran por debajo de los valores del grupo testigo: T4 ($10,89 \times 10^9/L$).

TABLA 5. ADEVA VALORACIÓN DE LEUCOCITOS DÍA 4 ($\times 10^9$ cels. /L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	240,55			
Tratamiento	3	4,81	1,60	0,11	0,9537
Error	16	235,74	14,73		
CV= 35,92					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

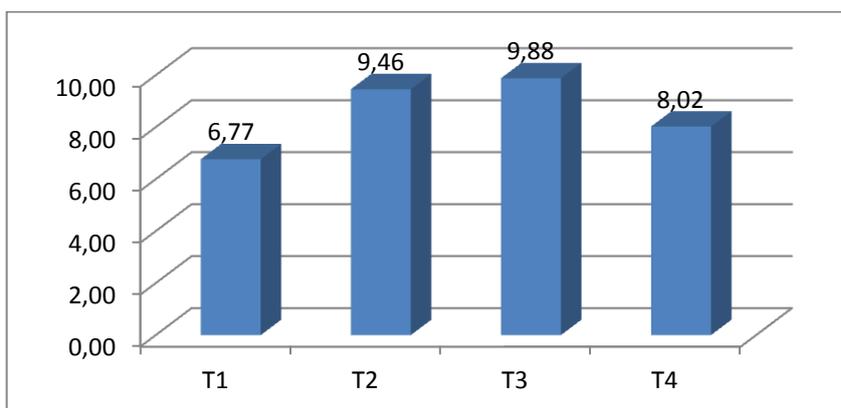
Además respecto a la Tabla 5; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “leucocitos” en el cuarto día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,9537$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p \geq 0,05$), con un CV de 35,92 que describe un aumento en la dispersión de la varianza total de resultados comparado con el día anterior del ensayo, esto debido a la acción del filgrastim® en los valores de leucocitos en los cuales encontrándose dentro de los rangos normales ($2- 14 \times 10^9/l$) (KITAKAGI, 2005).

CUADRO 14. VALOR ABSOLUTO LEUCOCITOS DÍA 5 ($\times 10^9$ cels. /L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	5,76	14,14	11,66	11,98
2	5,63	8,54	11,48	7,92
3	9,83	11,91	5,59	7,27
4	7,43	4,65	6,13	9,74
5	5,18	8,06	14,55	3,21
PROMEDIO	6,77	9,46	9,88	8,02

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 5. PROMEDIO LEUCOCITOS DÍA 5 ($\times 10^9$ cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se describen en el Cuadro 14 y Gráfico 5; el promedio de valores absolutos de leucocitos en el quinto día (cuarta aplicación de filgrastim®); en los que se identifica disminución de los valores numéricos de leucocitos comparado con los datos del día anterior, llegando al promedio del rango normal de leucocitos. Sin embargo se describe que T3 ($10,15 \times 10^9/L$) y T2 ($9,46 \times 10^9/L$) mantienen mínima movilización celular y que tanto T1 ($10,31 \times 10^9/L$) se encuentra por debajo de los valores del grupo testigo: T4 ($10,89 \times 10^9/L$).

TABLA 6. ADEVA VALORACIÓN DE LEUCOCITOS DIA 5 ($\times 10^9$ cels. /L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	201,15			
Tratamiento	3	30,30	10,10	0,95	0,4418
Error	16	170,85	14,7310,68		
CV= 38,29					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

De esta manera respecto a la Tabla 6; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático leucocitos en el quinto día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,4418$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p > 0,05$), con un CV de 38,29 que describe un aumento en la dispersión de la varianza total de resultados comparado con el día anterior del ensayo, esto debido a la acción del filgrastim® en los valores de leucocitos en los cuales encontrándose dentro de la media de los rangos normales ($2-14 \times 10^9/l$) (KITAKAGI, 2005). De tal forma se demuestra que no hubo un incremento en el promedio de movilización celular (leucocitos) en el último día de ensayo.

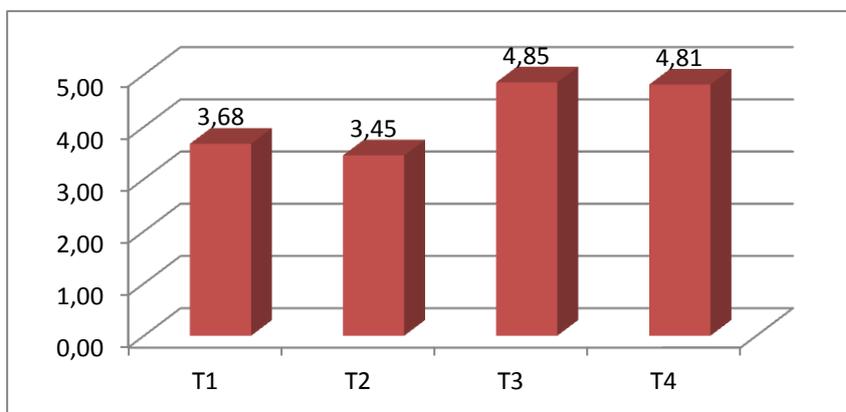
3.2. Eritrocitos

CUADRO 15. VALOR ABSOLUTO ERITROCITOS DÍA 1 ($\times 10^9$ cels. /L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	2,46	2,27	5,05	4,81
2	3,46	4,66	4,91	4,44
3	3,85	5,01	4,15	4,97
4	4,3	1,85	4,81	5,39
5	4,31	3,48	5,34	4,44
PROMEDIO	3,68	3,45	4,85	4,81

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 6. PROMEDIO ERITROCITOS DÍA 1 ($\times 10^{12}$ cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se expresan en el Cuadro 15 y Gráfico 6; el promedio de valores absolutos de eritrocitos en el primer día de ensayo (pre aplicación de filgrastim®). Se referencia homogeneidad en los promedios iniciales de eritrocitos; siendo el grupo T3 ($4,85 \times 10^{12}/L$) y el grupo testigo T4 ($4,85 \times 10^{12}/L$) con los valores dentro del rango normal; mientras que T1 ($4,85 \times 10^{12}/L$) y T2 ($4,85 \times 10^{12}/L$) se presentan con promedios por debajo del rango normal de referencia.

TABLA 7. ADEVA VALORACIÓN DE ERITROCITOS DIA 1 ($\times 10^{12}$ cels. /L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	19,75			
Tratamiento	3	8,14	2,71	3,74	0,0328
Error	16	11,61	0,73		
CV= 20,29					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

A continuación en la Tabla 7, se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “eritrocitos”. El valor estadístico en el primer día refleja como resultado $p=0,0328$; se considera que existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), con CV de 20,29 que demuestra una ligera dispersión en la varianza de los resultados. Los valores promedios al inicio de la investigación demuestran la referencia de varios autores (PALOMO, PEREIRA Y PALMA, 2005) que describen que los niveles de glóbulos rojos (células adultas) permanecen en circulación sanguínea por 120 días de vida media y después el sistema fagocítico lo retira de la circulación.

TABLA 8. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE ERITROCITOS DÍA 1

Tratamiento	Medias	N	E.E.	*
2	3,45	5	0,38	A
1	3,68	5	0,38	A B
4	4,81	5	0,38	B
3	4,85	5	0,38	B

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Además en la Tabla 8. Según la prueba de comparación de medias de Duncan letras iguales no presentan diferencia estadística mínima significativa; se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen dos rangos que están determinando diferencias particularmente entre los grupos T1AB y T2A respecto al grupo T3B y T4B. Así, T2 no presenta

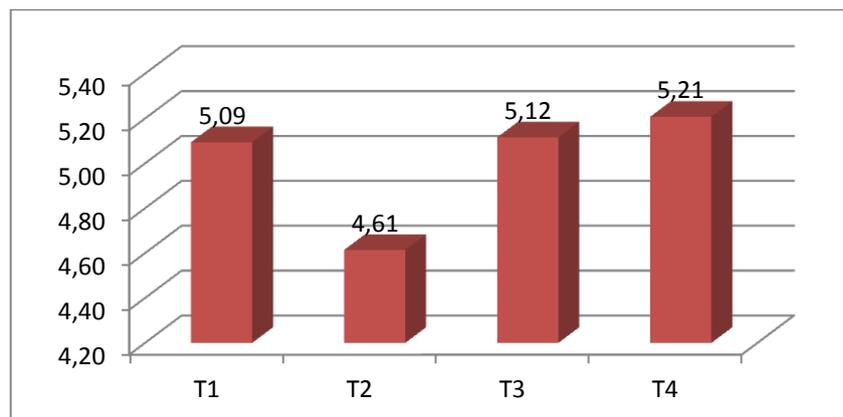
una diferencia estadística significativa con T1 (representado con la letra AB); de igual forma T1, T4 y T3 no representan una diferencia estadística significativa entre éstas (representado con la letra B); de tal manera indica que T3 tiene el promedio más alto del parámetro eritrocitos en el inicio de la investigación, determinado por los valores de los límites inferiores y superiores de la serie roja de acuerdo a la especie.

CUADRO 16. VALOR ABSOLUTO ERITROCITOS DÍA 2 ($\times 10^{12}$ cels. /L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	5,9	4,92	5,19	4,83
2	5,87	4,54	4,92	5,32
3	5,31	3,79	5,07	5,22
4	3,15	4,82	5,08	5,47
5	5,24	5	5,32	5,2
PROMEDIO	5,09	4,61	5,12	5,21

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 7. PROMEDIO ERITROCITOS DÍA 2 ($\times 10^{12}$ cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se mencionan en el Cuadro 16 y Gráfico 7; el promedio de valores absolutos de eritrocitos en el segundo día de ensayo (primera aplicación de filgrastim®). Se referencia homogeneidad en los valores promedio de eritrocitos; siendo el grupo testigo T4 ($5,21 \times 10^{12}/L$) el que tiene el promedio ligeramente más alto comparado con: T3 ($5,12 \times 10^{12}/L$), T1 ($5,09 \times 10^{12}/L$) y T2 ($4,61 \times 10^{12}/L$), pero que se encuentran dentro del rango normal de referencia.

TABLA 9. ADEVA VALORACIÓN DE ERITROCITOS DÍA 2 ($\times 10^{12}$ cels. /L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	7,45			
Tratamiento	3	1,07	0,36	0,90	0,4649
Error	16	6,38	0,40		
CV= 12,61					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

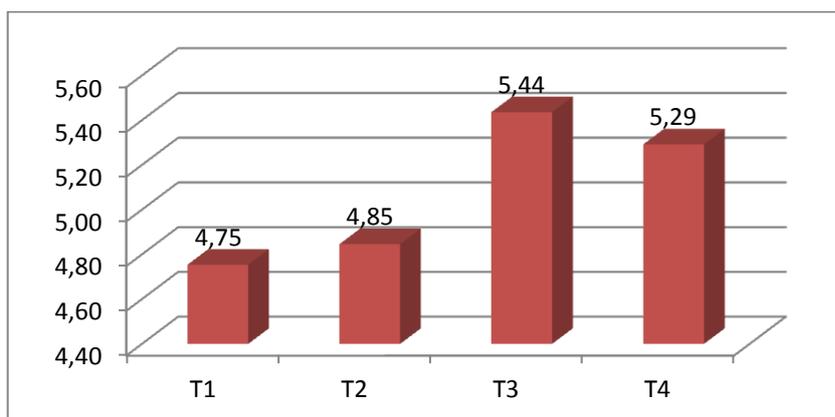
Así mismo en referencia en la Tabla 9; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático eritrocitos en el segundo día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,4649$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p > 0,05$), con un CV de 12,61 que describe una mínima dispersión de la varianza total de resultados comparado con el día anterior del ensayo; de ésta forma se interpreta que el filgrastim® no alteró el parámetro de eritrocitos en el cual debido a que (PALOMO, PEREIRA Y PALMA, 2005) describen que los niveles de glóbulos rojos (células adultas) permanecen estables en circulación sanguínea por 120 días (vida media) y después el sistema fagocítico lo retira de la circulación.

CUADRO 17. VALOR ABSOLUTO ERITROCITOS DÍA 3 ($\times 10^{12}$ cels. /L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	5,24	5,22	5,61	5,55
2	4,04	4,39	4,86	5,18
3	5,36	3,88	5,51	5,18
4	4,42	5,35	5,57	5,39
5	4,71	5,39	5,63	5,16
PROMEDIO	4,75	4,85	5,44	5,29

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 8. PROMEDIO ERITROCITOS DÍA 3 ($\times 10^{12}$ cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015.

Se exhiben en el Cuadro 17 y Gráfico 8; el promedio de valores absolutos de eritrocitos en el tercer día de ensayo (segunda aplicación de filgrastim®). Se referencia homogeneidad en los valores promedio de eritrocitos; siendo T3 ($5,44 \times 10^{12}/L$) el grupo que tiene el promedio ligeramente más alto, y mientras T1 ($4,75 \times 10^{12}/L$) como T2 ($4,85 \times 10^{12}/L$) se encuentran por debajo del valor promedio de eritrocitos del grupo testigo T4 ($5,29 \times 10^{12}/L$).

TABLA 10. ADEVA VALORACIÓN DE ERITROCITOS DÍA 3 ($\times 10^{12}$ cels./L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	5,26			
Tratamiento	3	1,66	0,55	2,46	0,0997
Error	16	3,60	0,22		
CV= 9,33					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

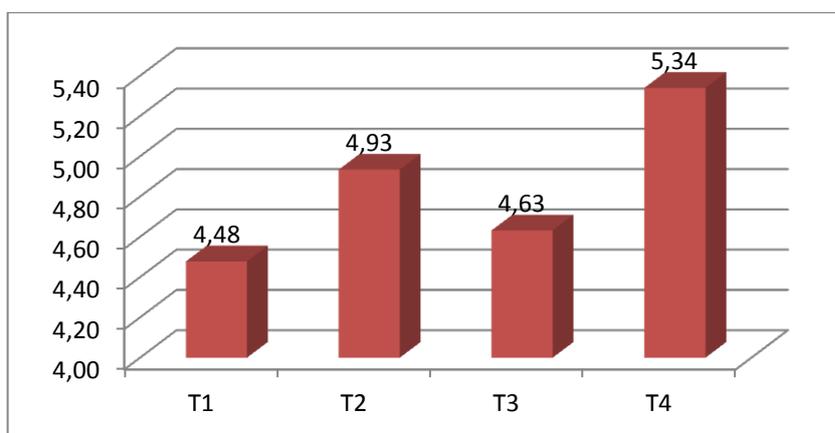
En relación a la Tabla 10; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático eritrocitos en el tercer día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,0997$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p > 0,05$), con un CV de 9,33 que describe una mínima dispersión de la varianza total de resultados comparado con el día anterior del ensayo; de ésta forma se interpreta que el filgrastim® no alteró el parámetro de eritrocitos en el cuy debido a que refleja lo que varios autores (PALOMO, PEREIRA Y PALMA, 2005) describen que los niveles de glóbulos rojos (células adultas) permanecen estables en circulación sanguínea por 120 días (vida media) y después el sistema fagocítico lo retira de la circulación.

CUADRO 18. VALOR ABSOLUTO ERITROCITOS DÍA 4 ($\times 10^{12}$ cels. /L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	5,06	5,79	5,16	5,24
2	3,34	5,05	4,25	5,42
3	5,38	3	5,28	5,25
4	3,9	5,31	3,36	5,24
5	4,71	5,52	5,11	5,55
PROMEDIO	4,48	4,93	4,63	5,34

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 9. PROMEDIO ERITROCITOS DÍA 4 ($\times 10^{12}$ cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se revelan en el Cuadro 18 y Gráfico 9; el promedio de valores absolutos de eritrocitos en el cuarto día de ensayo (tercera aplicación de filgrastim®). De igual manera no se observan cambios notables en relación al día anterior; pero si homogeneidad en los valores promedio de eritrocitos. Se describe al grupo testigo T4 ($5,34 \times 10^{12}$ /L) que tiene el promedio numérico ligeramente más alto comparado con T1 ($4,48 \times 10^{12}$ /L), T2 ($4,93 \times 10^{12}$ /L) y T3 ($4,63 \times 10^{12}$ /L).

TABLA 11. ADEVA VALORACIÓN DE ERITROCITOS DIA 4 ($\times 10^{12}$ cels. /L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	12,74			
Tratamiento	3	2,17	0,72	1,09	0,3811
Error	16	10,58	0,66		
CV= 16,78					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

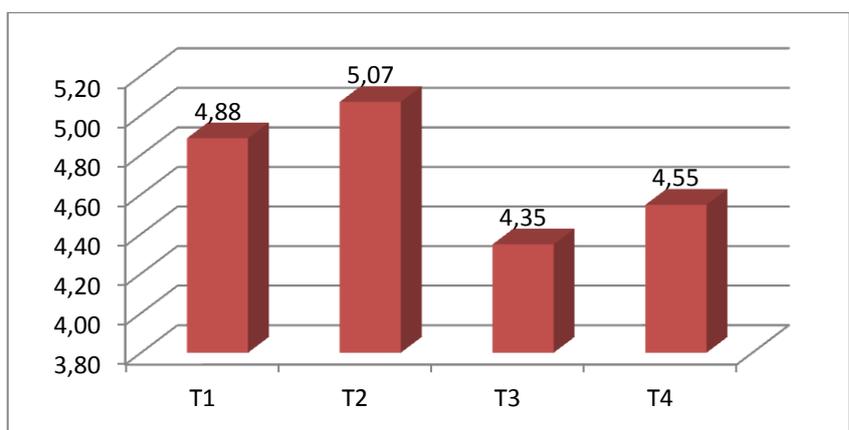
Se informa en la Tabla 11; el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático eritrocitos en el cuarto día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,3811$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p > 0,05$), con un CV de 16,78 que describe un ligero incremento en la dispersión de la varianza total de resultados comparado con el día anterior del ensayo; de ésta forma se interpreta que el filgrastim® no alteró el parámetro de eritrocitos en el cuy debido a que refleja lo que varios autores (PALOMO, PEREIRA Y PALMA, 2005) describen que los niveles de glóbulos rojos (células adultas) permanecen estables en circulación sanguínea por 120 días (vida media) y después el sistema fagocítico lo retira de la circulación.

CUADRO 19. VALOR ABSOLUTO ERITROCITOS DÍA 5 ($\times 10^{12}$ cels. /L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	5,69	5,65	5,53	5,7
2	3,64	5,02	4,24	4,5
3	5,22	2,94	4,46	5,19
4	4,88	6,02	4,36	5,26
5	4,99	5,71	3,15	2,09
PROMEDIO	4,88	5,07	4,35	4,55

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 10. PROMEDIO ERITROCITOS DIA 5 ($\times 10^{12}$ cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se expresan en el Cuadro 19 y Gráfico 10; el promedio de valores absolutos de eritrocitos en el quinto día de ensayo (cuarta aplicación de filgrastim®). Se describe que el grupo T2 ($5,07 \times 10^{12}/L$) tiene el promedio numérico más alto, seguido de T1 ($4,88 \times 10^{12}/L$), mientras que T3 ($4,35 \times 10^{12}/L$) tiene el mínimo valor numérico comparado con el grupo testigo T4 ($4,55 \times 10^{12}/L$). De igual manera no se observan cambios notables en relación al día anterior; pero si homogeneidad en los valores promedio de eritrocitos.

TABLA 12. ADEVA VALORACIÓN DE ERITROCITOS DÍA 5 ($\times 10^{12}$ cels. /L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	21,23			
Tratamiento	3	1,58	0,53	0,43	0,7355
Error	16	19,66	1,23		
CV= 23,52					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Así mismo respecto a la Tabla 12; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático eritrocitos en el quinto día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,7355$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p > 0,05$), con un CV de 23,52 que describe un aumento en la dispersión de la varianza total de resultados comparado con el día anterior del ensayo; de ésta forma se interpreta que el filgrastim® no alteró el parámetro de eritrocitos en el cual debido a que refleja lo que varios autores (PALOMO, PEREIRA Y PALMA, 2005) describen que los niveles de glóbulos rojos (células adultas) permanecen estables en circulación sanguínea por 120 días (vida media) y después el sistema fagocítico lo retira de la circulación. Se revelan los valores promedios de eritrocitos en un rango normal ($4-6 \times 10^{12}$ /L) (HEIN Y HARTMANN, 2003); y además se hace referencia a una correlación positiva entre los promedios de los valores de leucocitos con los valores de eritrocitos en las biometrías hemáticas posterior a la utilización del filgrastim para movilizar células madre hematopoyéticas en bovinos (GUTIÉRREZ, 2015).

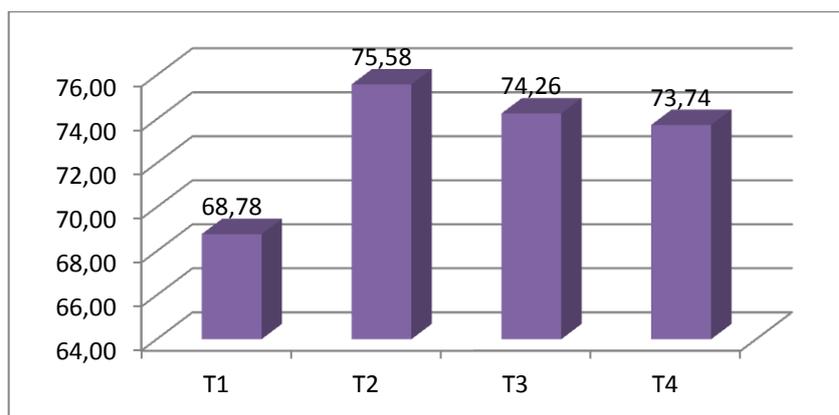
3.3. Granulocitos

CUADRO 20. VALOR RELATIVO GRANULOCITOS DÍA 1 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	32,2	75,5	71,6	93,80
2	83	87,1	87,3	54,4
3	77,6	86,6	74,5	85
4	74,5	46,1	69,1	65,7
5	85,4	82,6	68,8	69,8
PROMEDIO	68,78	75,58	74,26	73,74

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 11. PROMEDIO GRANULOCITOS DÍA 1 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se expresan en el Cuadro 20 y Gráfico 11; el promedio de valores relativos de granulocitos en el primer día de ensayo (pre aplicación de filgrastim®). Se describe que los grupos T2 (75,58 %), T3 (74,26 %) y T4 (73,74 %) tienen el promedio numérico más alto en el inicio de la investigación; mientras T1 (68,78 %) tiene el mínimo valor numérico. Se observa un promedio homogéneo en el porcentaje de granulocitos de cada tratamiento al comparar sus los valores iniciales.

TABLA 13. ADEVA VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DÍA 1 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	4369,66			
Tratamiento	3	68,60	22,87	0,09	0,9672
Error	16	4301,06	268,82		
CV= 22,30					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

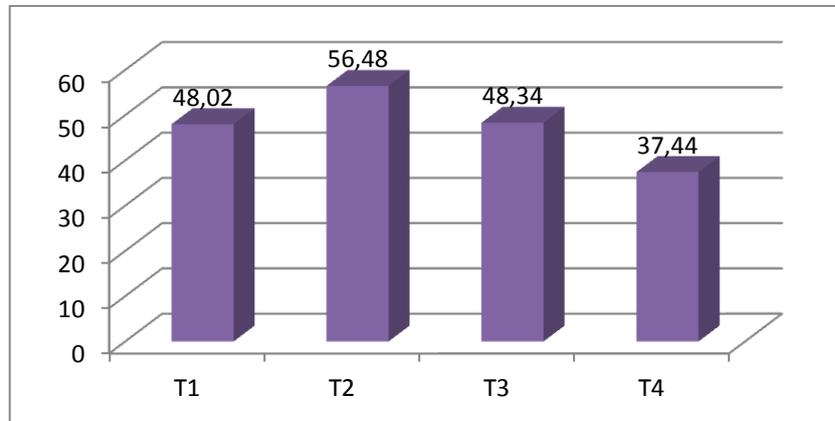
Al respecto a la Tabla 13; se describe el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “granulocitos” en el primer día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,9672$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p=>0,05$), con un CV de 22,30 que describe un buen margen en la dispersión de la varianza total de resultados. Se estableció un valor numérico referencial en éste parámetro con la media de los valores del primer día y los valores diarios del grupo T4 (testigo) (44,77 %); aquellos valores que superen al valor referencial se interpretó como movilización celular granulocítica.

CUADRO 21. VALOR RELATIVO GRANULOCITOS DÍA 2 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	47,6	58,8	48,9	28,60
2	43	56,3	54,9	34,7
3	48	61,6	34,7	47,9
4	50,4	62,3	46	39,1
5	51,1	43,4	57,2	36,9
PROMEDIO	48,02	56,48	48,34	37,44

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 12. PROMEDIO GRANULOCITOS DÍA 2 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se menciona en el Cuadro 21 y Gráfico 12; el promedio de valores relativos de granulocitos en el segundo día de ensayo (primera aplicación de filgrastim®). Se describe que el grupo T2 (56,48 %) tiene el promedio numérico más alto de movilización celular granulocítica; seguido de T1 (48,02 %) y T3 (48,34 %); mientras el grupo testigo T4 (37,78 %) refleja el mínimo valor numérico.

TABLA 14. ADEVA VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DÍA 2 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	1702,60			
Tratamiento	3	914,00	304,67	6,18	0,0054
Error	16	788,60	49,29		
CV= 14,76					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

A continuación respecto a la Tabla 14; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “granulocitos” en el segundo día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,0054$; considerando que existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), con un CV de 14,96 menor al del día anterior y que describe una disminución en el margen en la dispersión de la varianza total de resultados. Los datos indican la acción del filgrastim® en el organismo del cual dentro de los tratamientos en estudio (T1, T2, T3); en los cuales mantiene altos los promedios de movilización celular comparado con el T4 (testigo) respecto a sus valores que disminuyen notablemente. Y que según (VILLIERS Y BLACKWOOD, 2012) describen la vida media de células granulocíticas (neutrófilos, eosinófilos, basófilos) en el cual es de 1 a 4 días en procesos normales y en situaciones de estrés o enfermedad éstos valores tienden a disminuir.

TABLA 15. PRUEBA DUNCAN VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DÍA 2

Tratamiento	Medias	N	E.E.	*
1	48,02	5	3,14	B
2	56,48	5	3,14	B
3	48,34	5	3,14	B
4	37,44	5	3,14	A

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Además en la Tabla 15; Según la prueba de comparación de medias de Duncan letras iguales no presentan diferencia estadística mínima significativa; se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen dos rangos que están determinando diferencias particularmente entre los grupos T1B, T2B, T3B respecto al grupo T4. Por lo tanto se considera que entre T1, T2 y T3 no existe una diferencia estadística significativa (representado con la letra B), pero las medias de éstos tres tratamientos presentan diferencia estadística significativa con T4 (representado con la letra A), concluyendo que T2 es el mejor tratamiento en relación a movilización de células granulocíticas en el segundo día y T4 muestra ser el tratamiento con menor movilización celular.

CUADRO 22. VALOR RELATIVO GRANULOCITOS DÍA 3 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	41,6	64,8	50,5	31,20
2	53,3	50,7	45,7	28,2
3	40,9	67,3	39,4	45
4	38,7	40,2	49	30,7
5	24,3	45,4	40,5	40,7
PROMEDIO	39,76	53,68	45,02	35,16

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 13. PROMEDIO GRANULOCITOS DÍA 3 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se detallan en el Cuadro 22 y Gráfico 13; el promedio de valores relativos de granulocitos en el tercer día de ensayo (segunda aplicación de filgrastim®). Se describe que el grupo T2 (53,68 %) tiene el promedio numérico más alto de movilización celular granulocítica seguido de T3 (45,02 %); mientras que el grupo T1 (39,76 %) con el grupo testigo T4 (35,16 %) reflejan el mínimo valor numérico de movilización celular comparado con el valor referencial.

TABLA 16. ADEVA VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DÍA 3 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	2253,59			
Tratamiento	3	947,25	315,75	3,87	0,0296
Error	16	1306,34	81,65		
CV= 20,82					

FUENTE: SÁNCHEZ, Edison, 2015

A continuación respecto a la Tabla 16; se expone el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “granulocitos” en el tercer día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,0296$; considerando que existe diferencia estadística significativa ($p<=0,05$), con un CV de 20,82 mayor al día anterior y que describe un ligero aumento en el margen en la dispersión de la varianza total de resultados. De tal manera se interpreta la acción del filgrastim® en el organismo del cuy dentro de los tratamientos en estudio (T1, T2, T3); los cuales mantienen valores promedio de movilización celular sobre el valor de T4 (testigo) que sostiene los valores disminuidos. Así lo describen (VILLIERS Y BLACKWOOD, 2012) en el que consideran que la vida media de células granulocíticas (neutrófilos, eosinófilos, basófilos) en el cuy es de 1 a 4 días en procesos normales y en situaciones de estrés o enfermedad éstos valores disminuyen.

TABLA 17. PRUEBA DUNCAN VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DÍA 3

Tratamiento	Medias	n	E.E.	*
1	39,76	5	4,04	A
2	53,68	5	4,04	B
3	45,02	5	4,04	A B
4	35,16	5	4,04	A

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

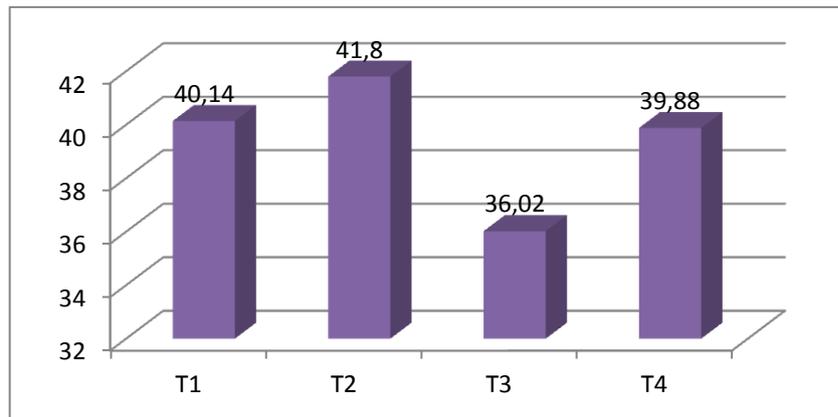
De esta forma en la Tabla 17; según la prueba de comparación de medias de Duncan letras iguales no presentan diferencia estadística mínima significativa. Se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen tres rangos que están determinando diferencias particularmente entre los grupos T1B, T3AB, T4B respecto al grupo T2B. Por lo tanto T4 y T1 no presentan diferencia estadística significativa con T3 (representado con la letra A), de similar forma T3 y T2 no presentan diferencia estadística significativa entre éstas (representado con la letra B), concluyendo que T2 es el mejor tratamiento en relación a movilización de células granulocíticas en el tercer día y T4 muestra ser el tratamiento con menor movilización celular.

CUADRO 23. VALOR RELATIVO GRANULOCITOS DÍA 4 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	38,3	40	44	43,10
2	55,8	46,4	36,5	38,6
3	47,4	46,8	36,8	46,4
4	31,3	40,2	29	42,1
5	27,9	35,6	33,8	29,2
PROMEDIO	40,14	41,8	36,02	39,88

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 14. PROMEDIO GRANULOCITOS DÍA 4 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se expresan en el Cuadro 23 y Gráfico 14; el promedio de valores relativos de granulocitos en el cuarto día de ensayo (tercera aplicación de filgrastim®). Se describe que el grupo T2 (41,80 %) y T1 (40,14) tienen el promedio numérico ligeramente elevados de movilización celular granulocítica comparado con T3 (36,02 %) y el grupo testigo T4 (39,88 %) que reflejan el mínimo valor numérico de movilización celular comparado con el valor referencial.

TABLA 18. ADEVA VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DIA 4 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	1001,67			
Tratamiento	3	89,74	29,91	0,52	0,6714
Error	16	911,93	57,00		
CV= 19,13					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

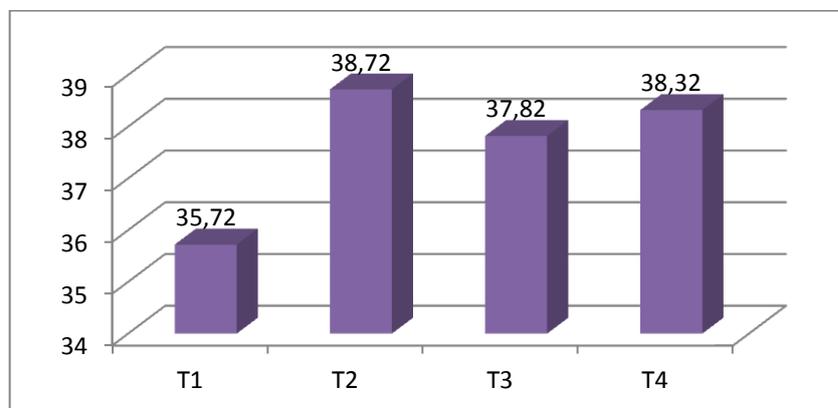
Se describe en la Tabla 18; el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “granulocitos” en el cuarto día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,6714$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), con un CV de 19,13 menor al día anterior y que describe un mejor margen en la dispersión de la varianza total de resultados. De tal manera se interpreta un mínimo efecto del filgrastim® en el organismo del cual dentro de los tratamientos en estudio (T1, T2, T3); los mismos que mantienen los valores promedio de movilización por debajo promedio referencial (44,77%) incluido el valor de T4 (testigo).

CUADRO 24. VALOR RELATIVO GRANULOCITOS DÍA 5 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	38,1	51,4	51,4	38,10
2	39,3	36,8	35,6	38
3	34,2	47,3	35,6	38,1
4	37,4	34,7	25,9	32,5
5	29,6	23,4	40,6	44,9
PROMEDIO	35,72	38,72	37,82	38,32

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 15. PROMEDIO GRANULOCITOS DÍA 5 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se informa en el Cuadro 24 y Gráfico 15; el promedio de valores relativos de granulocitos en el quinto día de ensayo (cuarta aplicación de filgrastim®). Se describe que los promedios de valores en T2 (38,72), T3 (37,82) y T1 (35,72) permanecen homogéneos comparados con el grupo testigo T4 (38,32), los mismos que se encuentran por debajo del valor referencial de granulocitos. Aún así el grupo T2 (38,72 %) es el que mantiene el promedio numérico ligeramente elevado de movilización celular granulocítica.

TABLA 19. ADEVA VALORACIÓN DE GRANULOCITOS DÍA 5 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	998,21			
Tratamiento	3	26,74	8,91	0,15	0,9302
Error	16	971,47	60,72		
CV= 20,70					

FUENTE: SÁNCHEZ, Edison, 2015

Así respecto a la Tabla 19; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “granulocitos” en el quinto día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,6714$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p=>0,05$), con un CV de 20,70 que describe un mejor margen en la dispersión de la varianza total de resultados. De tal manera se interpreta un mínimo efecto del filgrastim® en el organismo del cuy dentro de los tratamientos en estudio (T1, T2, T3); los mismos que mantienen los valores promedio de movilización por debajo promedio referencial (44,77%) incluido el valor de T4 (testigo).

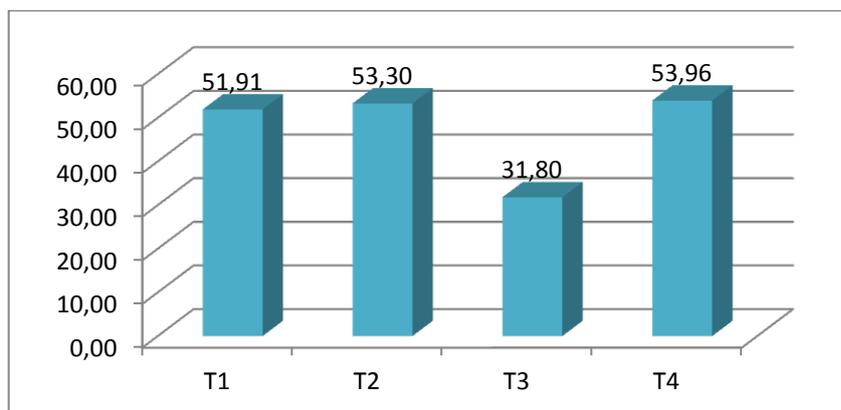
3.4. Neutrófilos

CUADRO 25. VALOR RELATIVO NEUTRÓFILOS DÍA 1 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	24,47	52,85	26,49	65,66
2	61	55,7	24,44	38,6
3	57,42	63,21	26,82	64,6
4	54,38	29,5	41,46	48,61
5	62,3	65,25	39,78	52,35
PROMEDIO	51,91	53,30	31,80	53,96

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 16. PROMEDIO NEUTRÓFILOS DÍA 1 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se expresan en el Cuadro 25 y Gráfico 16; el promedio de valores relativos de neutrófilos en el primer día de ensayo (pre aplicación de filgrastim®). Se describen los promedios de los grupos: T1 (51,91%), T2 (53,30%), T3 (31,80%) y el grupo testigo T4 (53,96%) los mismo que permanecen dentro del rango normal (12-62%) y que se encuentran homogéneos comparados con el grupo testigo T4. Aún así el promedio de T4 (38,72 %) es el de mayor referencia en éste día de estudio.

TABLA 20. ADEVA VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 1 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	4281,03			
Tratamiento	3	1706,22	568,74	3,53	0,0389
Error	16	2574,81	160,93		
CV= 26,57					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

A continuación respecto a la Tabla 20; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “neutrófilos” en el primer día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,0389$; considerando que existe diferencia estadística significativa ($p<=0,05$), con un CV de 26,57 el mismo que describe un ligero aumento del margen en la dispersión de la varianza total de resultados. Los resultados observados se han determinado por la interacción entre las variables. Además se ratifica y reporta (HEIN Y HARTMANN, 2003) que existe un amplio margen en el rango normal referencial de neutrófilos (12-62%)

TABLA 21. ADEVA VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 1 (%).

Tratamiento	Medias	N	E.E.	*
1	51,91	5	5,67	A
2	53,30	5	5,67	A B
3	31,80	5	5,67	A
4	53,96	5	5,67	B

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

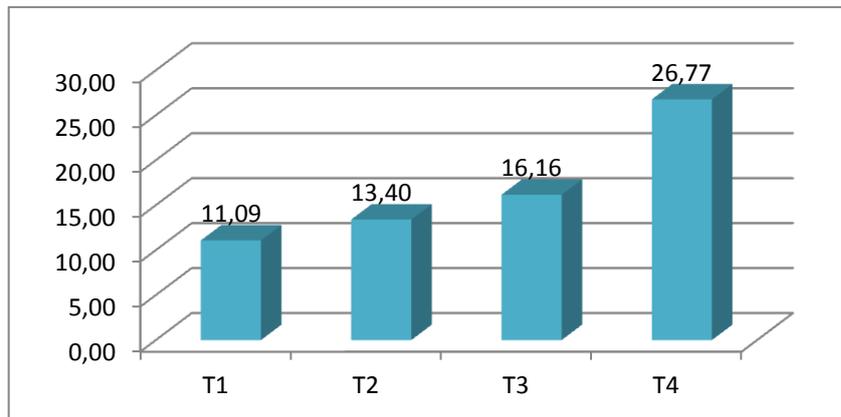
Se enuncia en la Tabla 21; Según la prueba de comparación de medias de Duncan letras iguales no presentan diferencia estadística mínima significativa. Se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen dos rangos que están determinando diferencias particularmente entre los grupos T1A, T2AB, T3A respecto al grupo T4B. Por lo tanto T3 y T1 no presentan una diferencia estadística significativa con T2 (representado con la letra A), de similar forma T2 no presenta una diferencia estadística significativa con T4 (representado con la letra B). De tal manera se concluye que T4 es el tratamiento que tiene valor numérico promedio de neutrófilos cerca del límite superior en el inicio de la investigación y T3 registra ser el tratamiento más cercano al límite inferior.

CUADRO 26. VALOR RELATIVO NEUTRÓFILOS DÍA 2 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	11,42	19,4	22	21,73
2	4,73	12,38	17,01	25,33
3	12,96	7,39	5,2	36,88
4	17,64	17,44	6,9	27,76
5	8,68	10,41	29,7	22,14
PROMEDIO	11,09	13,40	16,16	26,77

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 17. PROMEDIO NEUTRÓFILOS DÍA 2 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se reflejan en el Cuadro 26 y Gráfico 17; el valor relativo de promedios de neutrófilos en el segundo día de ensayo (primera aplicación de filgrastim®). Además se describe que: T3 (16,16%), T2 (13,40%) y T1 (11,09%) se encuentran por debajo del valor promedio del grupo testigo T4 (26,77%). Tanto T1, T2, y T3 los valores representan grados de neutropenia; excepto el grupo testigo T4.

TABLA 22. ADEVA VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 2 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	1487,01			
Tratamiento	3	719,69	239,90	5,00	0,0123
Error	16	767,32	47,96		
CV= 41,09					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

A continuación respecto a la Tabla 22; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “neutrófilos” en el segundo día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,0123$; considerando que existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), con un CV de 41,09 el mismo que describe el aumento del margen en la dispersión de la varianza total de resultados, esto debido a la acción del filgrastim® en la movilización y aumento de células inmaduras desde médula ósea a sangre periférica (GUTIÉRREZ, 2015) posterior a 24 horas de su aplicación, relacionándolo de manera indirecta con la vida media de granulocitos (neutrófilos) a nivel sanguíneo (VILLIERS Y BLACKWOOD, 2012).

TABLA 23. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN NEUTRÓFILOS DÍA 2

Tratamiento	Medias	N	E.E.	*
1	11,09	5	3,10	A
2	13,40	5	3,10	A
3	16,16	5	3,10	A
4	26,77	5	3,10	B

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

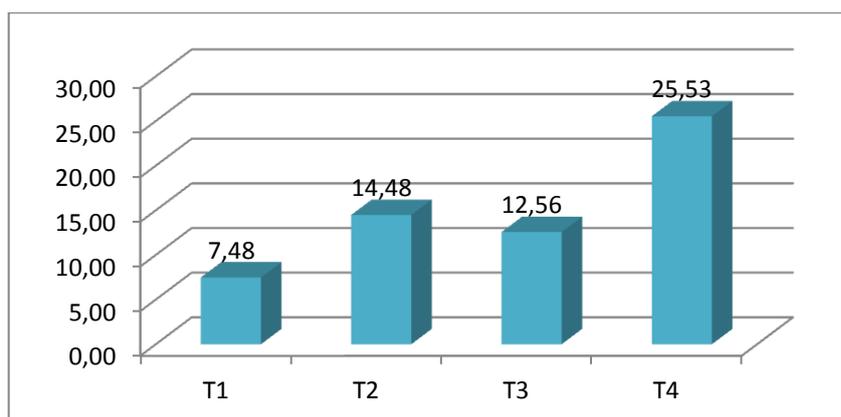
Con relación en la Tabla 23; según la prueba de comparación de medias de Duncan letras iguales no presentan diferencia estadística mínima significativa. Se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen dos rangos que están determinando diferencias particularmente entre los grupos T1A, T2A, T3A respecto al grupo T4B. Así se observa que T1 y T2 no refleja una diferencia estadística significativa con T3 (representado con la letra A), pero las medias de éstos tres tratamientos (T1, T2, T3) presentan marcada diferencia estadística significativa con T4 (representado con la letra B), concluyendo que T4 es el tratamiento que numéricamente moviliza más neutrófilos en el segundo día pero dentro del valor promedio normal, mientras T1 muestra ser el tratamiento con menor movilización celular. Se referencia que T1, T2, y T3 presentan los valores de neutrófilos por debajo (neutropenia) del límite inferior (12%) y se considera que existe correlación positiva con el parámetro de células inmaduras (cayados) en ésta especie.

CUADRO 27. VALOR RELATIVO NEUTRÓFILOS DÍA 3 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	5,4	18,14	11,61	22,15
2	7,99	13,68	8,68	20,73
3	11,86	15,47	7,88	31,05
4	8,51	12,86	15,19	23,63
5	3,64	12,25	19,44	30,11
PROMEDIO	7,48	14,48	12,56	25,53

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 18. PROMEDIO NEUTRÓFILOS DÍA 3 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se exhiben en el Cuadro 27 y Gráfico 18; el valor relativo de promedios de neutrófilos en el tercer día de ensayo (segunda aplicación de filgrastim®). Además se destaca el valor numérico más alto el del grupo testigo: T4 (16,16%) comparado con los promedios de los grupos en estudio: T2 (14,48%), T3 (12,56%) y T1 (7,48%) en ese orden, se encuentran por debajo del valor promedio del grupo testigo T4.

TABLA 24. ADEVA VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 3 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	1112,52			
Tratamiento	3	868,69	259,86	19,00	0,0001
Error	16	243,82	15,24		
CV= 26,00					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

A continuación respecto a la Tabla 24; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “neutrófilos” en el tercer día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,001$; considerando que existe diferencia estadística significativa ($p<=0,05$); con un CV de 26,00 el mismo que describe la disminución en la dispersión de la varianza total de resultados con relación al día anterior, debido a la acción del filgrastim® en la movilización y aumento de células inmaduras desde médula ósea a sangre periférica (GUTIÉRREZ, 2015) posterior a 24 horas de su aplicación y relacionándolo de manera indirecta con la vida media de granulocitos (neutrófilos) a nivel sanguíneo (VILLIERS Y BLACKWOOD, 2012).

TABLA 25. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN NEUTRÓFILOS DÍA 3

Tratamiento	Medias	n	E.E.	*
1	7,48	5	1,75	A
2	14,48	5	1,75	B
3	12,56	5	1,75	A B
4	25,53	5	1,75	C

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

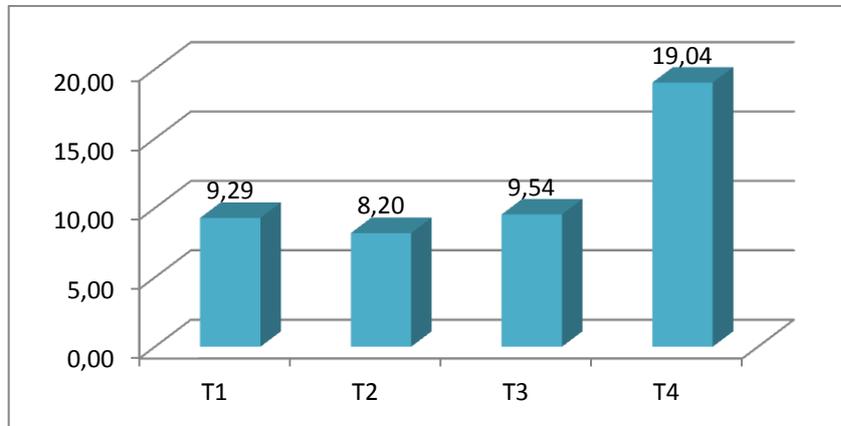
De esta forma en la Tabla 25; según la prueba de comparación de medias de Duncan letras iguales no presentan diferencia estadística mínima significativa. Se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen tres rangos que están determinando diferencias particularmente entre los grupos T1A, T3AB, T3AB respecto al grupo T4C. Así, se observa que T1 no presenta diferencia estadística significativa con respecto a T3 (representado con la letra A), además T3 no presenta diferencia estadística significativa con T2 (representado con la letra AB) pero las medias de T1, T2 y T3 mantienen una marcada diferencia estadística significativa con T4 (representado con la letra C). De ésta manera se concluye que T4 es el tratamiento que numéricamente moviliza más neutrófilos en el tercer día pero dentro del valor promedio normal, mientras T1 muestra ser el tratamiento con menor movilización celular. Se referencia que T1, T2, y T3 presentan los valores de neutrófilos por debajo (neutropenia) del límite inferior (12%) considerando que existe correlación positiva con el parámetro de células inmaduras (cayados) en ésta especie.

CUADRO 28. VALOR RELATIVO NEUTRÓFILOS DÍA 4 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	9,57	12	17,16	18,96
2	16,74	6,96	11,68	15,82
3	9,95	5,14	6,25	22,27
4	6,57	6,2	3,48	27,36
5	3,62	10,68	9,12	10,8
PROMEDIO	9,29	8,20	9,54	19,04

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 19. PROMEDIO NEUTRÓFILOS DÍA 4 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se informan en el Cuadro 28 y Gráfico 19; el valor relativo de promedios de neutrófilos en el cuarto día de ensayo (tercera aplicación de filgrastim®). Además se destaca el valor numérico más alto el del grupo testigo: T4 (19,04%) comparado con los promedios de los grupos en estudio: T3 (9,54%), T1 (9,29%) y T2 (8,20%) en ese orden, se encuentran por debajo del valor promedio del grupo testigo T4.

TABLA 26. ADEVA VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 4 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	782,00			
Tratamiento	3	382,65	127,55	5,11	0,0114
Error	16	399,35	24,96		
CV= 43,38					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

A continuación respecto a la Tabla 26; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “neutrófilos” en el cuarto día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,0114$; considerando que existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), con un CV de 43,38 el mismo que describe el aumento en la dispersión de la varianza total de resultados con relación al día anterior, debido a la acción del filgrastim® en la movilización y aumento de células inmaduras desde médula ósea a sangre periférica (GUTIÉRREZ, 2015) posterior a 24 horas de su aplicación y relacionándolo de manera indirecta con la vida media de granulocitos (neutrófilos) a nivel sanguíneo (VILLIERS Y BLACKWOOD, 2012).

TABLA 27. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN NEUTRÓFILOS DÍA 4

Tratamiento	Medias	n	E.E.	*
1	9,29	5	2,23	A
2	8,20	5	2,23	A
3	9,54	5	2,23	A
4	19,04	5	2,23	B

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

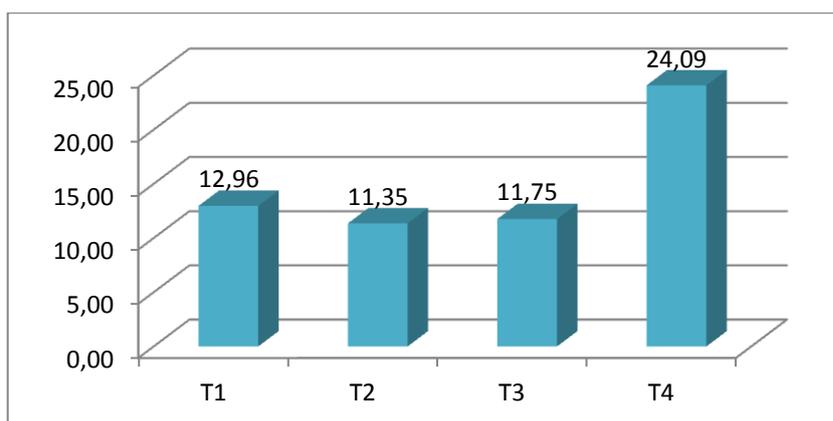
Según la Tabla 27; indica la prueba de comparación de medias de Duncan letras iguales no presentan diferencia estadística mínima significativa. Se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen dos rangos que están determinando diferencias particularmente entre los grupos T1A, T2A, T3A respecto al grupo T4B. Así se observa que T2 y T1 no refleja una diferencia estadística significativa con T3 (representado con la letra A), pero las medias de éstos tres tratamientos (T1, T2, T3) presentan marcada diferencia estadística significativa con T4 (representado con la letra B), concluyendo que T4 es el tratamiento que numéricamente moviliza más neutrófilos en el cuarto día pero dentro del valor promedio normal, mientras T2 muestra ser el tratamiento con menor movilización celular. Se referencia que T1, T2, y T3 presentan los valores de neutrófilos por debajo (neutropenia) del límite inferior (12%) y se considera que existe correlación positiva con el parámetro de células inmaduras (cayados) en ésta especie.

CUADRO 29. VALOR RELATIVO NEUTRÓFILOS DÍA 5 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	11,81	8,22	17,47	22,47
2	16,11	15,08	11,39	27,74
3	10,6	8,04	9,61	21,33
4	16,83	16,3	2,84	27,36
5	9,47	9,12	17,45	21,55
PROMEDIO	12,96	11,35	11,75	24,09

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 20. PROMEDIO NEUTRÓFILOS DÍA 5 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se expresan en el Cuadro 29 y Gráfico 20; el valor relativo de promedios de neutrófilos en el quinto día de ensayo (cuarta aplicación de filgrastim®). Además se destaca el valor numérico más alto el del grupo testigo: T4 (24,09%) comparado con los promedios de los grupos en estudio: T1 (12,96%), T3 (11,75%) y T2 (11,35%) en ese orden, los mismos que se encuentran por debajo del valor promedio del grupo testigo T4.

TABLA 28. ADEVA VALORACIÓN DE NEUTRÓFILOS DÍA 5 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	851,25			
Tratamiento	3	553,12	184,37	9,90	0,0006
Error	16	298,13	18,63		
CV= 28,70					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

A continuación respecto a la Tabla 28; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “neutrófilos” en el quinto día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,0006$; considerando que existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), con un CV de 28,70 el cual es menor al valor del día anterior y que describe dispersión de la varianza total de resultados, debido a la acción del filgrastim® en la movilización y aumento de células inmaduras desde médula ósea a sangre periférica (GUTIÉRREZ, 2015) posterior a 24 horas de su aplicación y relacionándolo de manera indirecta con la vida media de granulocitos (neutrófilos) a nivel sanguíneo (VILLIERS y BLACKWOOD, 2012), además se destaca y compara con estudios realizados en humanos, en los que resalta el aumento hemático y la mayor movilización celular (neutrófilos) en el quinto día a sangre periférica (MARTINO y otros, 2014).

TABLA 29. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN NEUTRÓFILOS DÍA 5

Tratamiento	Medias	N	E.E.	*
1	12,96	5	1,93	A
2	11,35	5	1,93	A
3	11,75	5	1,93	A
4	24,09	5	1,93	B

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Además en la Tabla 29; Según la prueba de comparación de medias de Duncan letras iguales no presentan diferencia estadística mínima significativa; se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen dos rangos que están determinando diferencias particularmente entre los grupos T1A, T2A, T3A respecto al grupo T4B. Por lo tanto T2 y T3 no refleja una diferencia estadística significativa con T1 (representado con la letra A), pero las medias de éstos tres tratamientos (T1, T2, T3) presentan marcada diferencia estadística significativa con T4 (representado con la letra B), concluyendo que T4 es el tratamiento que numéricamente moviliza más neutrófilos en el quinto día; pero dentro del valor promedio normal mientras, T2 muestra ser el tratamiento con menor movilización celular. Se referencia que T1, T2, y T3 presentan los valores de neutrófilos por debajo (neutropenia) del límite inferior (12%) y se considera que existe correlación positiva con el parámetro de células inmaduras (cayados) en ésta especie.

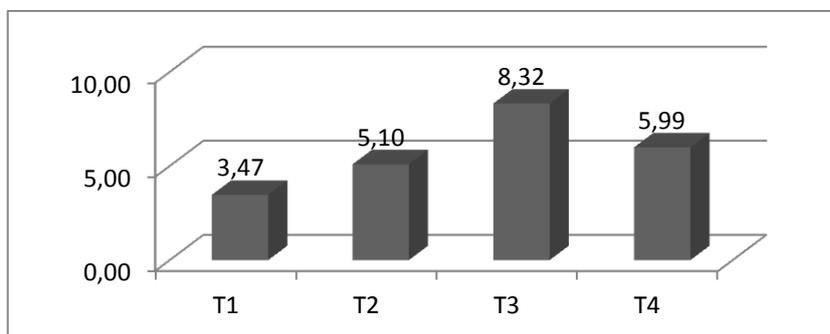
3.5. Cayados

CUADRO 30. VALOR RELATIVO CAYADOS DÍA 1 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	2,57	8,3	9,3	10,31
2	2,07	2,61	15,71	3,8
3	3,88	5,19	10,43	4,25
4	3,72	6,91	2,07	3,94
5	5,12	2,47	4,11	7,67
PROMEDIO	3,47	5,10	8,32	5,99

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 21. PROMEDIO CAYADOS DIA 1 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se informan en el Cuadro 30 y Gráfico 21; el promedio de valores relativos de cayados en el primer día de ensayo (pre aplicación de filgrastim®); reflejando los promedios de los grupos: T1 (3,47%), T2 (5,10%), T3 (8,32%) y el grupo testigo T4 (5,99%); los mismos que exceden el valor del rango normal (0-1%) y que se encuentran homogéneos comparados con el grupo testigo T4. Sin embargo el promedio de mayor referencia numérica en el inicio del ensayo es T3 (8,32 %).

TABLA 30. ADEVA VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 1 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	244,18			
Tratamiento	3	61,49	20,50	1,80	0,1886
Error	16	182,69	18,6311,42		
CV= 59,06					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

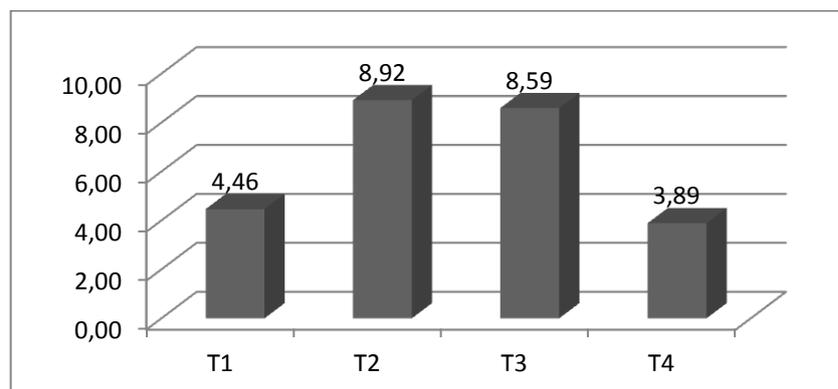
A continuación en referencia a la Tabla 30; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “cayados” en el primer día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,1886$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p \geq 0,05$), con un CV de 59,06 el mismo que describe el aumento en la dispersión de la varianza total de resultados, que se atribuye a la variante dinámica que mantiene éste parámetro en el cuy (VILLIERS Y BLACKWOOD, 2012) y no refleja la descripción del rango normal (0-1 %) de cayados (KITAKAGI, 2005).

CUADRO 31. VALOR RELATIVO CAYADOS DÍA 2 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	4,76	3,17	14,67	1,14
2	1,29	13,51	8,23	3,47
3	7,68	7,39	2,77	5,74
4	7,56	11,83	4,14	4,3
5	1,02	8,68	13,15	4,79
PROMEDIO	4,46	8,92	8,59	3,89

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 22. PROMEDIO CAYADOS DÍA 2 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se describen en el Cuadro 31 y Gráfico 22; el promedio de valores relativos de cayados en el segundo día de ensayo (primera aplicación de filgrastim®); destacándose el máximo promedio de movilización celular en T2 (8,92%), seguido de T3 (8,59%), y T1 (4,46%) comparado con el grupo testigo T4 (3,89%) que representa el menor valor numérico de movilización celular. El grupo testigo T4 disminuyó notablemente los valores comparados con los de el día anterior.

TABLA 31. ADEVA VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 2 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	336,57			
Tratamiento	3	105,92	35,31	2,45	0,1012
Error	16	230,65	14,42		
CV= 58,73					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

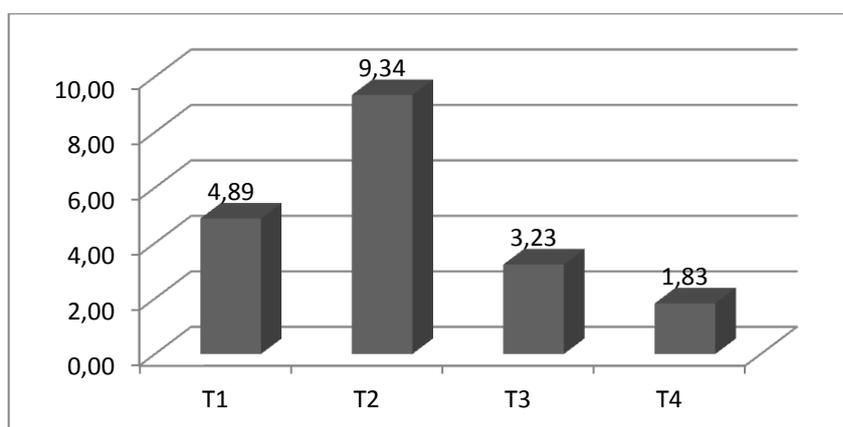
De tal manera en referencia a la Tabla 31; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “cayados” en el segundo día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,1012$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p=>0,05$), con un CV de 58,73 que describe el aumento en la dispersión de la varianza total de resultados, atribuible a la acción del filgrastim® en la movilización de células inmaduras (cayados) de médula ósea a sangre periférica posterior a una primera aplicación (GUTIÉRREZ, 2015) y no refleja la variante dinámica que mantiene éste parámetro en el cuy (VILLIERS Y BLACKWOOD, 2012) descrito con el valor promedio del grupo testigo que se encuentran por debajo de los tratamientos en estudio, además se distingue una correlación positiva con los valores de neutrófilos.

CUADRO 32. VALOR RELATIVO CAYADOS DÍA 3 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	2,49	11,01	5,05	1,87
2	6,92	9,12	1,82	1,41
3	7,77	14,8	2,36	2,7
4	5,8	7,23	2,45	1,53
5	1,45	4,54	4,45	1,62
PROMEDIO	4,89	9,34	3,23	1,83

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 23. PROMEDIO CAYADOS DIA 3



FUENTE: SÁNCHEZ, Edison, 2015

Se exponen en el Cuadro 32 y Gráfico 23; el promedio de valores relativos de cayados en el tercer día de ensayo (segunda aplicación de filgrastim®); se destaca el máximo promedio de movilización celular en T2 (9,34%), seguido de T1 (4,89%) con valores similares al día anterior, y T3 (3,23%) junto con el grupo testigo T4 (1,83%) indican el menor valor numérico de movilización celular. El grupo testigo T4 disminuyó notablemente los valores comparados con los del día anterior.

TABLA 32. ADEVA VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 3 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	259,90			
Tratamiento	3	159,70	53,23	8,50	0,0013
Error	16	100,20	6,26		
CV= 51,92					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

A continuación respecto a la Tabla 32; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “cayados” en el tercer día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,0013$; considerando que existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), con un CV de 51,92 el mismo que describe que se mantiene el aumento en la dispersión de la varianza total de resultados, que se atribuye a la acción del filgrastim® en la movilización de células inmaduras (cayados) de médula ósea a sangre periférica en bovinos (GUTIÉRREZ, 2015) además refleja la variante dinámica que mantiene éste parámetro en el cual (VILLIERS Y BLACKWOOD, 2012) descrito con el valor promedio del grupo testigo, que se encuentra por debajo de los tratamientos en estudio y que además se distingue una correlación positiva con los valores de neutrófilos.

TABLA 33. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 3

Tratamiento	Medias	n	E.E.	*
1	4,98	5	1,12	A
2	9,34	5	1,12	B
3	3,23	5	1,12	A
4	1,83	5	1,12	A

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

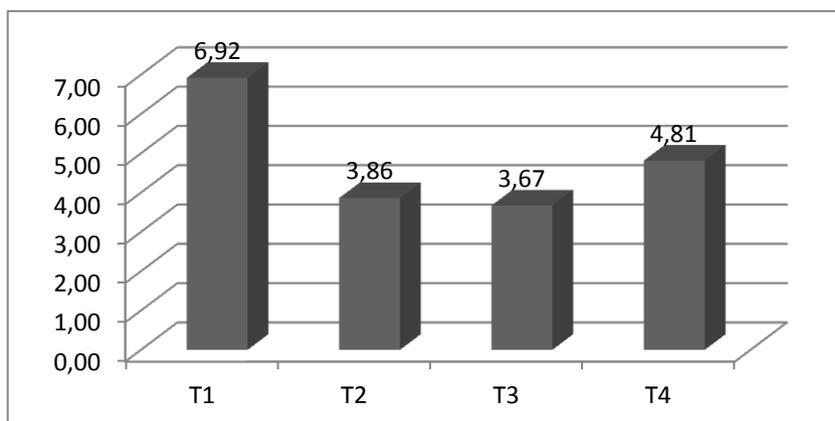
Así mismo en la Tabla 33. Según la prueba de comparación de medias de Duncan letras iguales no presentan diferencia estadística mínima significativa; se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen dos rangos que están determinando diferencias particularmente entre los grupos T1A, T3A, T4A respecto al grupo T2B. Así se observa que T4 y T3 no refleja una diferencia estadística significativa con T1 (representado con la letra A), pero las medias de éstos tres tratamientos (T4, T3, T1) presentan marcada diferencia estadística significativa con T2 (representado con la letra B), concluyendo que T2 es el tratamiento que numéricamente moviliza células inmaduras (cayados) en el tercer día; pero dentro del valor promedio normal mientras, T4 muestra ser el tratamiento con menor movilización celular. Se referencia que existe correlación positiva con el parámetro neutrófilos en ésta especie.

CUADRO 33. VALOR RELATIVO CAYADOS DÍA 4 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	9,57	3,6	6,6	1,72
2	7,25	6,03	1,46	3,08
3	7,58	5,14	3,68	6,03
4	6,57	3,47	2,9	7,99
5	3,62	1,06	3,71	5,25
PROMEDIO	6,92	3,86	3,67	4,81

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 24. PROMEDIO CAYADOS DÍA 4 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se informa en el Cuadro 33 y Gráfico 24; el promedio de valores relativos de cayados en el cuarto día de ensayo (tercera aplicación de filgrastim®); se destaca el máximo promedio de movilización celular en T1 (6,92%), seguido de T2 (4,89%) y T3 (3,67) que indican el menor valor numérico de movilización celular comparado con el grupo testigo T4 (4,81%). De tal manera se aprecia que T2 disminuyó notablemente los valores comparados con los niveles que son altos en los días anteriores.

TABLA 34. ADEVA VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 4 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	104,61			
Tratamiento	3	33,23	11,08	2,48	0,0981
Error	16	71,93	4,46		
CV= 43,86					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

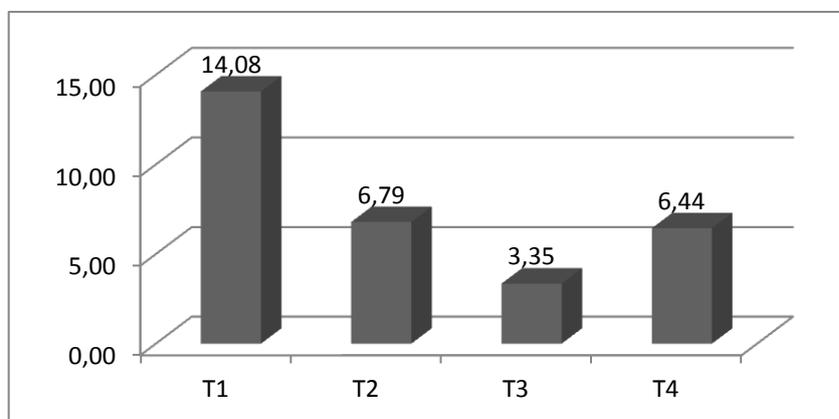
De tal manera respecto a la Tabla 34; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “cayados” en el cuarto día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,0981$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p>0,05$), con un CV de 43,86 menor al día anterior pero que se mantiene el aumento en la dispersión de la varianza total de resultados, atribuible a la acción del filgrastim® en la movilización de células inmaduras (cayados) de médula ósea a sangre periférica en bovinos (GUTIÉRREZ, 2015) además no refleja la variante dinámica que mantiene éste parámetro en el cuy (VILLIERS Y BLACKWOOD, 2012) descrito con el valor promedio del grupo testigo, y que además mantiene una correlación positiva con los valores de neutrófilos en éste día de estudio.

CUADRO 34. VALOR RELATIVO CAYADOS DÍA 5 (%)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	14,85	10,28	2,57	6,47
2	17,68	7,72	1,42	5,32
3	9,91	3,78	5,69	9,14
4	13,46	8,67	1,81	4,55
5	14,5	3,51	5,27	6,73
PROMEDIO	14,08	6,79	3,35	6,44

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 25. PROMEDIO CAYADOS DÍA 5 (%)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se describen en el Cuadro 34 y Gráfico 25; el promedio de valores relativos de cayados en el quinto día de ensayo (cuarta aplicación de filgrastim®); se destaca el máximo promedio de movilización celular en T1 (14,08%), seguido de T2 (6,79%) que mantiene valores numéricos similares al grupo testigo T4 (6,44%). Mientras tanto T3 (3,35%) demuestra el menor valor numérico de movilización celular.

TABLA 35. ADEVA VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 5 (%)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	406,03			
Tratamiento	3	310,06	103,35	17,23	0,0001
Error	16	95,97	6,00		
CV= 31,95					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

A continuación respecto a la Tabla 35; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “cayados” en el quinto día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,0001$; considerando que existe diferencia estadística significativa ($p\leq 0,05$), con un CV de 31,95 y describe que se mantiene el aumento en la dispersión de la varianza total de resultados pero menor al día anterior. Se atribuyen éstos resultados a la acción del filgrastim® en la movilización de células inmaduras (cayados) de médula ósea a sangre periférica (GUTIÉRREZ, 2015); además comparando los rangos, estos son más y de máxima movilización de células madre hematopoyéticas (CMH) en humanos según (LANA, 2006). (COURI y otros, 2009) utiliza la dosis estándar ($5\mu\text{g}/\text{kg}$).

TABLA 36. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE CAYADOS DÍA 5

Tratamiento	Medias	n	E.E.	*
1	14,08	5	1,10	B
2	6,79	5	1,10	A
3	3,35	5	1,10	A
4	6,44	5	1,10	A

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Además en la Tabla 36. Según la prueba de comparación de medias de Duncan letras iguales no presentan diferencia estadística mínima significativa; se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen dos rangos que están determinando diferencias particularmente entre los grupos T2A, T3A, T4A respecto al grupo T1B. Así, se observa que T3 y T4 no refleja una diferencia estadística significativa con T2 (representado con la letra A), pero las medias de éstos tres tratamientos (T2, T3, T4) presentan marcada diferencia estadística significativa con T1 (representado con la letra B), concluyendo que T1 es el tratamiento que numéricamente moviliza células inmaduras (cayados) en el quinto día, mientras tanto T3 muestra ser el tratamiento con menor movilización celular. Se referencia que existe correlación positiva con el parámetro neutrófilos en ésta especie.

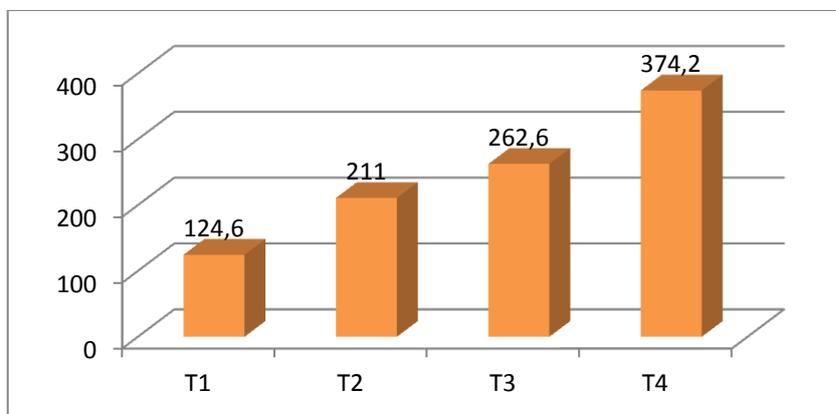
3.6. Plaquetas

CUADRO 35. VALOR ABSOLUTO PLAQUETAS DÍA 1 ($\times 10^9$ cels./L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	161	119	154	199
2	89	353	371	387
3	59	263	121	566
4	181	88	359	440
5	133	232	308	279
PROMEDIO	124,6	211	262,6	374,2

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 26. PROMEDIO PLAQUETAS DÍA 1 ($\times 10^9$ cels./L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se detalla en el Cuadro 35 y Gráfico 26; el promedio de valores absolutos de la serie plaquetaria en el primer día de ensayo (pre aplicación de filgrastim®); los promedios de valores numéricos iniciales se mantienen dentro de los rangos normales en T2 ($262,6 \times 10^9/L$) y T4 ($374,2 \times 10^9/L$) y destacan los promedios de T1 ($124,6 \times 10^9/L$) y T2 ($211 \times 10^9/L$) que mantienen valores mínimos numéricos y que se encuentran por debajo del rango referencial normal.

TABLA 37. ADEVA VALORACIÓN DE PLAQUETAS DÍA 1 ($\times 10^9$ cels./L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	356237,80			
Tratamiento	3	163200,60	54400,20	4,51	0,0178
Error	16	193037,20	12064,83		
CV= 45,18					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

De tal forma respecto a la Tabla 37; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “plaquetas” en el primer día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,0178$; considerando que existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), con un CV de 45,18 en el que se refleja el aumento en la dispersión de la varianza total de resultado. De tal manera los cambios en los valores de plaquetas cercanos del límite inferior ($273 \times 10^9/L$) es atribuible a la acción farmacológica de la heparina sódica inoculada en cada unidad experimental pre extracción sanguínea, el mismo que afectan notablemente al rango normal ($273-745 \times 10^9/L$) de plaquetas en sangre (HEIN Y HARTMANN, 2003).

TABLA 38. PRUEBA DE DUNCAN VALORACIÓN DE PLAQUETAS DÍA 1

Tratamiento	Medias	n	E.E.	*
1	124,60	5	49,12	A
2	211,00	5	49,12	A
3	262,60	5	49,12	A B
4	374,20	5	49,12	B

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

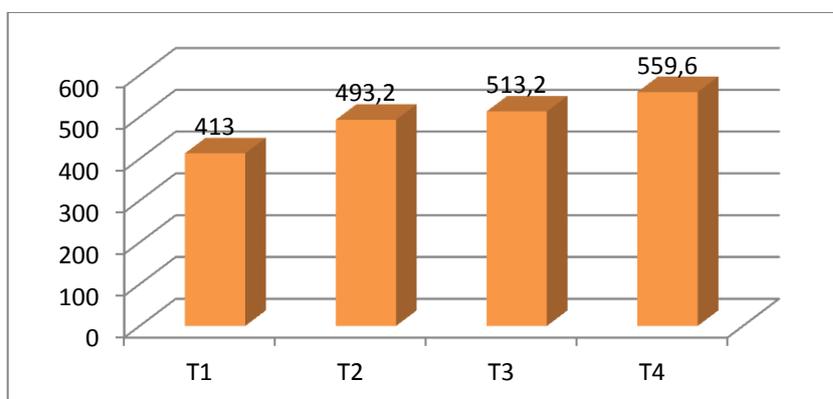
Con relación a la Tabla 38. Según la prueba de comparación de medias de Duncan letras iguales no presentan diferencia estadística mínima significativa; se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está generando diferencias, en este caso existen dos rangos que están determinando diferencias particularmente entre los grupos T1A, T2A, T3AB respecto al grupo T4B. Así, se observa que T1 y T2 no reflejan una diferencia estadística significativa con T3 (representado con la letra A), de similar manera T3 no presenta diferencia estadística significativa con T4 (representado con la letra B), concluyendo que el grupo testigo T4 es el tratamiento que numéricamente moviliza mayor número de células plaquetarias en el primer día de ensayo, mientras tanto T1 muestra ser el tratamiento con menor movilización celular.

CUADRO 36. VALOR ABSOLUTO PLAQUETAS DÍA 2 (x 10⁹cels./L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	365	552	501	440
2	233	352	550	584
3	518	463	585	664
4	493	561	440	444
5	456	538	490	666
PROMEDIO	413	493,2	513,2	559,6

FUENTE: SÁNCHEZ, Edison, 2015

GRÁFICO 27. PROMEDIO PLAQUETAS DÍA 2 (x 10⁹cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se expresan en el Cuadro 36 y Gráfico 27; el promedio de valores absolutos de la serie plaquetaria en el segundo día de ensayo (primera aplicación de filgrastim®); en los que se refleja la disminución en los valores numéricos de los grupos T3 (513,2 x 10⁹/L), T2 (493,2 x 10⁹/L) y T1 (413 x 10⁹/L) comparado con el grupo testigo T4 (559,6 x 10⁹/L) que representa el mayor valor numérico. Los mismos que se encuentran dentro del valor normal (273 x 745 10⁹/L).

TABLA 39. ADEVA VALORACIÓN DE PLAQUETAS DÍA 2 (x 10⁹cels. /L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	204083,75			
Tratamiento	3	56156,95	18718,98	2,02	0,1510
Error	16	147926,80	9245,43		
CV= 19,43					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

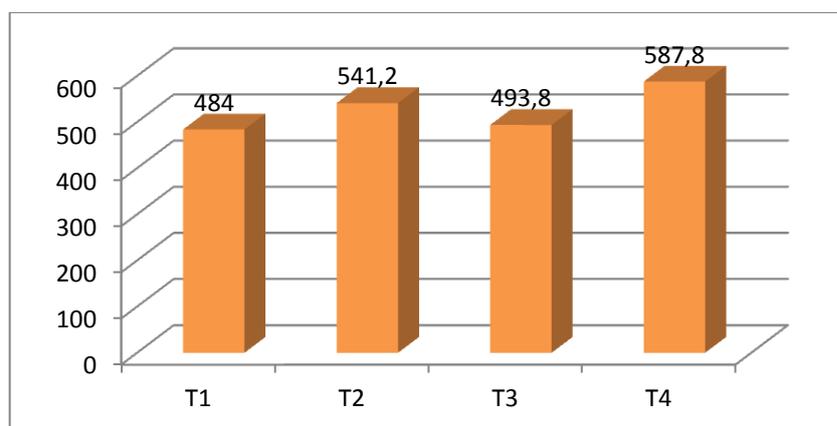
En cuanto a la Tabla 39; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “plaquetas” en el segundo día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,1510$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p > 0,05$), con un CV de 19,43 en el que se refleja disminución de la dispersión de la varianza total de resultados. El aumento de los valores en el promedio de plaquetas es atribuible a factores de territorialidad en cuyes machos dentro de las pozas en los que se desencadenan lesiones por peleas (GUERRA, 2009) con referencia al grupo T4 (testigo). Aun así en éste día no se ve afectado el rango normal ($273-745 \times 10^9/L$) de plaquetas en sangre (HEIN Y HARTMANN, 2003) por acción del filgrastim®.

CUADRO 37. VALOR ABSOLUTO PLAQUETAS DÍA 3 ($\times 10^9$ cels./L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	509	661	560	686
2	322	361	480	557
3	553	432	533	562
4	536	634	435	482
5	500	618	461	652
PROMEDIO	484	541,2	493,8	587,8

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 28. PROMEDIO PLAQUETAS DÍA 3 (x 10⁹cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se mencionan en el Cuadro 37 y Gráfico 28; el promedio de valores absolutos de la serie plaquetaria en el tercer día de ensayo (segunda aplicación de filgrastim®); en los que se refleja la disminución en los valores numéricos de los grupos T2 (541,2 x 10⁹/L), T3 (493,8 x 10⁹/L) y T1 (484 x 10⁹/L) comparado con el grupo testigo T4 (587,8 x 10⁹/L) que representa el mayor valor numérico. Los mismos que se encuentran dentro del valor normal (273 x 745 10⁹/L).

TABLA 40. ADEVA VALORACIÓN DE PLAQUETAS DÍA 3 (x 10⁹cels. /L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	179310,20			
Tratamiento	3	34245,80	11415,27	1,51	0,3217
Error	16	145064,40	9066,53		
CV= 18,08					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

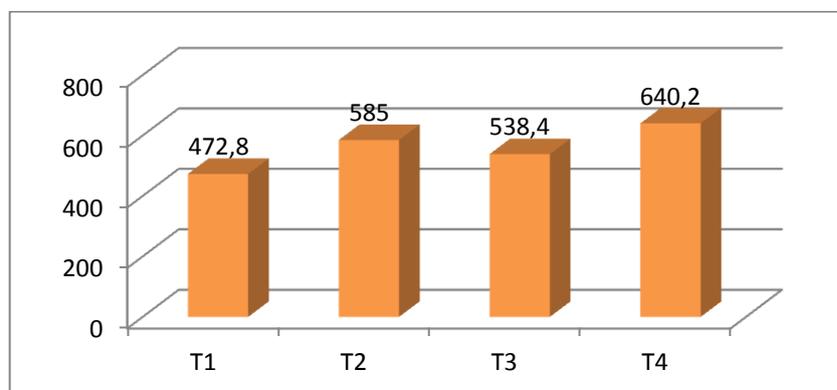
Se resalta en la Tabla 40; el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “plaquetas” en el tercer día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,3217$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p>0,05$), con un CV de 18,08 menor al día anterior y en el que se refleja disminución de la dispersión de la varianza total de resultados. El aumento de los valores en el promedio de plaquetas es atribuible a factores de territorialidad en cuyos machos dentro de las pozas en los que se desencadenan lesiones por peleas (GUERRA, 2009); aun así no se ve afectado el rango normal ($273-745 \times 10^9/L$) de plaquetas en sangre (HEIN Y HARTMANN, 2003) por acción del filgrastim®.

CUADRO 38. VALOR ABSOLUTO PLAQUETAS DÍA 4 ($\times 10^9$ cels. /L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	460	659	586	683
2	394	504	504	609
3	563	415	698	642
4	506	684	432	539
5	441	663	472	728
PROMEDIO	472,8	585	538,4	640,2

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 29. PROMEDIO PLAQUETAS DÍA 4 ($\times 10^9$ cels. /L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se detalla en el Cuadro 38 y Gráfico 29; el promedio de valores absolutos de la serie plaquetaria en el cuarto día de ensayo (tercera aplicación de filgrastim®); en los que se refleja la disminución en los valores numéricos de los grupos T2 (585 x 10⁹/L), T3 (538,4 x 10⁹/L) y T1 (472,8 x 10⁹/L) comparado con el grupo testigo T4 (640,2 x 10⁹/L) que representa el mayor valor numérico. Los mismos que se encuentran dentro del valor normal (273 x 745 10⁹/L).

TABLA 41. ADEVA VALORACIÓN DE PLAQUETAS DÍA 4 (x 10⁹cels. /L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	214475,80			
Tratamiento	3	75621,00	25207,00	2,90	0,0670
Error	16	138854,80	8678,43		
CV= 16,66					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

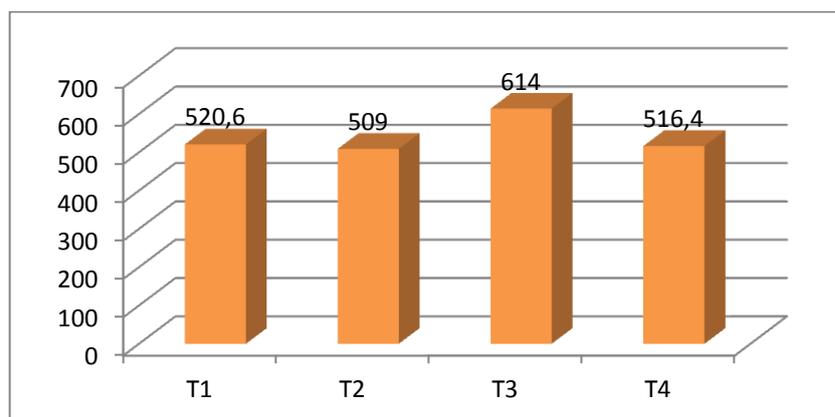
Además respecto a la Tabla 41; se presenta el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “plaquetas” en el cuarto día de ensayo. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,0670$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p \geq 0,05$), con un CV de 16,66 menor al día anterior y en el que se refleja disminución de la dispersión de la varianza total de resultados. El aumento de los valores en el promedio de plaquetas es atribuible a factores de territorialidad en cuyos machos dentro de las pozas en los que se desencadenan lesiones por peleas (GUERRA, 2009); aun así no se ve afectado el rango normal (273-745x10⁹/L) de plaquetas en sangre (HEIN Y HARTMANN, 2003) por acción del filgrastim®.

CUADRO 39. VALOR ABSOLUTO PLAQUETAS DÍA 5 (x 10⁹cels./L)

UNIDADES EXPERIMENTALES	T1	T2	T3	T4
1	418	551	737	531
2	532	359	517	506
3	491	399	835	645
4	495	566	491	493
5	667	670	490	407
PROMEDIO	520,6	509	614	516,4

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

GRÁFICO 30. PROMEDIO PLAQUETAS DÍA 5 (x 10⁹cels./L)



Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se describen en el Cuadro 39 y Gráfico 30; el promedio de valores absolutos de la serie plaquetaria en el quinto día de ensayo (cuarta aplicación de filgrastim®); en los que se reflejan el aumento del valor numérico en T3 (614 x 10⁹/L); seguido de T1 (520,6 x 10⁹/L) comparado con el grupo testigo T4 (516,4 x 10⁹/L), además el grupo T2 (509 x 10⁹/L) representa el menor valor numérico. De la misma manera el promedio de cada tratamiento se encuentran dentro del valor normal (273 x 745 10⁹/L).

TABLA 42. ADEVA VALORACIÓN DE PLAQUETAS DÍA 5 ($\times 10^9$ cels./L)

F. V.	GL	SC	CM	F	p-valor
Total	19	269266,00			
Tratamiento	3	36851,60	12283,87	0,85	0,4889
Error	16	232414,40	14525,90		
CV= 22,32					

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Así mismo respecto a la Tabla 42; se menciona el análisis de varianza (ADEVA) del parámetro hemático “plaquetas” en el quinto día. El valor estadístico refleja como resultado $p=0,4889$; considerando que no existe diferencia estadística significativa ($p=>0,05$), con un CV de 22,32 ligeramente mayor al valor del día anterior y en el que se refleja la dispersión de la varianza total de resultados. El aumento de los valores en el promedio de plaquetas es atribuible a factores de territorialidad en cuyes machos dentro de las pozas en los que se desencadenan lesiones por peleas (GUERRA, 2009); aun así no se ve afectado el rango normal ($273-745 \times 10^9/L$) de plaquetas en sangre (HEIN Y HARTMANN, 2003) por acción del filgrastim®.

3.7. ANÁLISIS DE COSTOS

TABLA 43. ANÁLISIS DE COSTOS GENERAL

TRATAMIENTOS	COSTOS		TOTAL
	FILGRASTIM®	MATERIALES	
TRATAMIENTO 1 (5µg.)	9,33	3,00	12,33
TRATAMIENTO 2 (10µg.)	18,66	3,00	21,66
TRATAMIENTO 3 (15µg.)	28,00	3,00	31,00
TRATAMIENTO 4 (0µg.)	0,00	0,00	0,00

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Se referencia en la Tabla 43; el análisis de costos de los protocolos para la movilización células madre hematopoyéticas en cada uno de los tratamientos de la investigación. El protocolo de T1 (5 µg. de filgrastim®) muestra un costo de \$12,33; seguido del protocolo de T2 (10 µg. de filgrastim®) describe un costo de \$21,66; y el protocolo de T3 (15 µg. de filgrastim®) detalla un costo de \$28,00.

TABLA 44. ANÁLISIS DE COSTOS DIARIOS

TRATAMIENTOS	COSTOS DE MOVILIZACIÓN DE CMH				Total
	APLICACIÓN FILGRASTIM®				
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	
TRATAMIENTO 1 (5µg.)	3,08	3,08	3,08	3,08	12,32
TRATAMIENTO 2 (10µg.)	5,41	5,41	5,41	5,41	21,64
TRATAMIENTO 3 (15µg.)	7,75	7,75	7,75	7,75	31,00
TRATAMIENTO 4 (0µg.)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Fuente: SÁNCHEZ, E. 2015

Así mismo se describe en la Tabla 44; el análisis de costos por día para la movilización de CMH en cada uno de los tratamientos. Se determina a T2 (10µg. de filgrastim®) cómo el tratamiento que moviliza mayor cantidad CMH en una primera aplicación (\$3,08); seguido de T3 (15µg. de filgrastim®) que moviliza CMH de manera inconstante con varias aplicaciones (\$15,50) y T1 (5µg. de filgrastim®) que llegó al pico más alto de movilización de CMH posterior a la cuarta aplicación (\$12,32).

CONCLUSIONES

1. En el presente estudio; la obtención de células madre hematopoyéticas fue satisfactoria en el cobayo, observando que la mayor movilización de células inmaduras (cayados) se presentó en los tratamientos T1, T2 y T3 respecto el grupo testigo T4.
2. Los índices de los parámetros de la serie blanca (leucocitos, granulocitos, segmentados y cayados) presentaron cambios numéricos significativos en contraste con el grupo testigo. Mientras que los valores de la serie roja no presentaron cambios significativos en los valores numéricos, determinando una correlación positiva y negativa entre ambas series.
3. El filgrastim permitió identificar células inmaduras que corresponden al proceso de granulomonopoyesis como: mieloblastos, promielocitos, mielocitos, metamielocitos, cayados.
4. Se establece que T2 (10 μg de filgrastim®/kg) generó la mayor movilización de células sanguíneas a sangre periférica comparándolo con T1, T3 y T4 (testigo); el mismo que permitió la movilización de la serie blanca a través de una sola inoculación; además se referencia que T1 (5 μg de filgrastim®/kg) mantiene una movilización constante mínima hasta obtener el valor más alto de células movilizadas al quinto día.

RECOMENDACIONES

- Investigar y estandarizar otra fuente de movilización de células madre hematopoyéticas en el cobayo, posibilitando la caracterización de los diferentes linajes de células madre hematopoyéticos y mesenquimales.
- Realizar investigaciones con base al uso de filgrastim® (protocolos) para generar la posible movilización de nichos celulares de diferentes tejidos.
- Definir la utilización de una sola dosis, o dosis consecutivas de filgrastim® de acuerdo a los valores de movilización celular obtenidos; así como investigar los posibles efectos secundarios generados.
- Extrapolar estos resultados en otras especies de interés veterinario.
- Creación de un bioterio para animales de laboratorio (experimentación).

BIBLIOGRAFÍA

1. CITAS CONSULTADAS

1. CADENA, S. Crianza casera y comercial de cuyes. Quito, Ecuador. 2000. Edit. Libros Epsilon. pp. 9-17
2. DAVOLI, R., S. Braglia, V. Russo, L. Varona, and M. F. Pas. 2011. Expression profiling of functional genes in prenatal skeletal muscle tissue in duroc and pietrain pigs. *J. Anim. Breed. Genet.* 128: 15-27.
3. DODSON, M. V., G. J. Hausman, L. Guan, M. Du, T. P. Rasmussen, S. P. Poulos, P. Mir, W. G. Bergen, M. E. Fernyhough, D. C. McFarland, R. P. Rhoads, B. Soret, J. M. Reecy, S. G. Velleman, and Z. Jiang. 2010. Skeletal muscle stem cells from animals I. Basic cell biology. *Int. J. Biol. Sci.* 6: 465-474.
4. GANONG, William. Fisiología médica. 18a. ed. San Francisco: Manual Moderno, 2002. 565 p.
5. GONZÁLEZ Garciñuno, Álvaro. Cultivos Celulares. Células madre y regeneración ósea. Universidad de Salamanca: Salamanca, España. 2012. 223-238 p.
6. GUTMAN, J.A., Turtle, C.J., Manley, T. J. Heimfield, S., Bernstein, I.D., Riddell, S.R., Delaney, C. (2010). Single-unit dominance after double-unit umbilical cord blood transplantation coincides with a specific CD8+ T-cell response against the nonengrafted unit. *Blood* 115 (4): 757-765 p.
7. HARVEY John, Atlas of Veterinary hematology: Blood and Bone Marrow of Domestic Hematology. Philadelphia: Elseiver, 2011. 18 p.
8. HERTHEL Douglas J. "Enhanced Suspensory Ligament Healing in 100 Horses by Stem Cells and Other Bone Marrow Components"., DVM. AAEP PROCEEDINGS / Vol. 47 / 2001.
9. JAIN NC, Blue JT, Grindem CB, et al: Proposed criteria for classification of acute myeloid leukemia in dogs and cats. *Vet Clin Pathol* 20:63-82, 1991.

10. KAUSHANSKY, K. Hematopoietic stem cells, progenitors and cytokines. En Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ (eds.). Williams Hematology. New York: McGraw-Hill, 2006; 201-220 p.
11. KÖRBLING M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair - A new therapeutic concept? N Engl J Med 2003; 349:570-82.
12. LEXUS. 2004. Manual de crianza de animales. Barcelona: Lexus editores, 2004. ISBN: 9972-625-74-5.
13. MOHANTY, N., Gulati, B.R., Kumar, R., Gera, S., Kumar, S., Kumar, P y Yadav, P.S. (2014). Phenotypical and functional characteristics of mesenchymal stem cells derived from equine umbilical cord blood. Cytotechnology. Dec 9. [Epub ahead of print] PMID:25487085
14. MORSTYN G, DEXTER TM y FOOTE MA. Filgrastim (r-metHuG-CSF) in Clinical Practice. New York. (1998). Marcel Dekker. Parte 1 Pg 41-60.
15. PALOMINO, R. 2002. Crianza y comercialización de cuyes. Lima, Perú. Edit. Ripalme. Pp. 14-26
16. QUESENBERRY P, Colvin G. Hematopoietic Stem Cells, progenitor cells and cytokines. En: Hematology. Beutler E, Marshall S, Coller B, Kipps T, Seligsohn M. Mc Graw Hill, 2001, pp153o
17. REAGAN William. Hematología veterinaria. En su: Atlas de especies domésticas comunes. 1ª. Ed. Harcourt, 2010. pp. 3
18. ROSENBAUER F, Tenen DG. Transcription factors in myeloid development: balancing differentiation with transformation. Nat Rev Immunol 2007; 7: 105-17o
19. ROSENTHAL N. Prometheus's vulture and the stem-cell promise. N Engl J Med 2003;349:267-74
20. RUCKEBUSH, Yves, PHANEUF, Louis-Philippe y DUNLOP Roberto. Fisiología de pequeñas y grandes especies. Toulouse: Manual Moderno, 2000. 135 p. ISBN: 968426660
21. VERFAILLIE CM, Pera MF, Lansdorp PM. Stem cells: Hype and reality. Hematology 2002; 1:369-91.

22. VILLIERS, Elizabeth y BLACKWOOD, Laura. Manual de diagnóstico de laboratorio en pequeños animales. 1 a. ed. Barcelona: Lexus, 2012. 83 p.

1.1.Trabajos de Titulación

1. AGUIRRE, Vivar Jorge. Factores obstétricos y neonatales que afectan la recolección de células madre de sangre de cordón umbilical. Tesis (Médico General) Quito, Ecuador: Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias de la Salud, 2007.
2. BELTRÁN, Ranera Beatriz. Células madre mesenquimales: Obtención y análisis de sus propiedades in vitro. Tesis (Doctoral en Veterinaria). Zaragoza, España: Universidad Zaragoza. Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal, 2012. 9 p.
3. CABRERA, R. 2000. Determinación del rendimiento productivo de cuyes con alimento balanceado peletizado y diferentes fuentes de vitamina C. Tesis (Ingeniero Agrónomo). Cochabamba, Bolivia. Universidad Mayor de San Simón. Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias. Departamento de Zootecnia, 2000. 95 p.
4. GUTIÉRREZ Reinoso, Miguel. Perspectivas del uso de células madre: Tratamiento de leucosis bovina. Tesis (Magister en Producción Animal). Santo Domingo, Ecuador: Universidad Tecnológica Equinoccial, Extensión Santo Domingo, 2015. 48p.
5. MARIÑO, Frias Juan. Evaluación del efecto de diferentes descargas eléctricas en el aturdimiento de cuyes. Tesis (Ingeniero Zootecnista). Riobamba, Ecuador: ESPOCH, Facultad de Ciencias Pecuarias, 2010. 3 p.
6. MONTALVO, Vela Mercedes. Evaluación de rendimiento del cuy a la canal bajo tres niveles de alimentación. Tesis (Médico Veterinario). Latacunga, Ecuador: Universidad Técnica de Cotopaxi, UACAREN, 2011. 61 p.
7. YANEZ, Zapata Miguel. Evaluación de dietas con tres niveles de bagazo de caña de azúcar para engorde de cuyes. Tesis (Médico Veterinario).

Latacunga, Ecuador: Universidad Técnica de Cotopaxi, UACAREN, 2013.
3 p.

1.2.Informes

1. ARÉVALO Fabián. “*Manual de zootecnia general*”, Riobamba–Ecuador. 2001
2. CABRERA, A. Los roedores argentinos de la familia cavidae. Publicación, Universidad de Buenos Aires. 2004
3. GOMEZ, B.C y VERGARA, V. “Fundamentos de la nutrición y alimentación en cuyes. Primer curso nacional de capacitación en crianza familiar. 2004
4. SALINAS, M. *Crianza y comercialización de cuyes*. Lima-Perú. 2002.

2. CITAS VIRTUALES

2.1.Revista Electrónica

1. ASHP [En línea]. Estados Unidos: American Society of Health Pharmacist, 2010- [fecha de consulta: 27 Marzo 2014].Disponible en:<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/meds/a607058-es.htm>
2. BAGÓ Laboratorios. Filgen: Generalidades y Composición. [En línea]. Argentina: 2010 [fecha de consulta: 27 Marzo 2014].Disponible en: http://www.bago.com.ec/index.php?option=com_sobi2&sobi2Task=sobi2Details&catid=2&sobi2Id=63&Itemid=
3. CASTRO, Hever Patricio. 2002. Benson Agriculture and Food Institute. Sistemas de crianza de cuyes a nivel familiar-comercial en el sector rural. [En línea] 2002. [Fecha de consulta: 18 Junio de 2011.]Disponible en: <http://www.bensoninstitute.org/publication/thesis/sp/cuyecuador.pdf>.

4. GARCIA, Domingo. Medicina de la cobaya. En: VTJG [en línea]. Segundo Congreso JG: Hospital Veterinario JG Mutxamel. Alicante. Julio, 2004. [Fecha de consulta: 27 Marzo 2014] Disponible en: http://www.vetjg.com/shared/php/page.php?page=artic_peq_medicina_cobaya
5. GUERRA, León César. Manual técnico de crianza de cuyes. Revista CDPAS [en línea]. 2009, no. 1. [Fecha de consulta: 24 Marzo 2015] Disponible en: <http://es.slideshare.net/KariOlortegui/manual-tnico-de-crianza-de-cuyes>
6. MARCANO, Rigoberto. La sangre: Glóbulos blancos. [En línea]. Caracas: Medicina Preventiva, 2014 [fecha de consulta: 20 Mayo 2014] Disponible en: http://www.medicinapreventiva.com.ve/laboratorio/globulos_blanco.sht
7. MONTES, Andía Teresa. Guía técnica en crianza tecnificada de cuyes. Revista de la UNALM [en línea]. 2012, no. 1. [Fecha de consulta: 24 Marzo 2015] Disponible en: <http://www.agrobanco.com.pe/data/uploads/ctecnica/015-a-crianza-tecnificada.pdf>
8. OZER H, ARMITAGE JO and BENNETT CL. Update of recommendations for the use of hematopoietic colony-stimulating factors: evidence-based, clinical practice guidelines. J Clin Oncol. 2000; 18:3558.
9. REDALYC [en línea]: Las células madre mesenquimales desde las perspectivas de las ciencias veterinarias. Colombia: Revista de Medicina Veterinaria Universidad de la Salle, 2007-[fecha de consulta: 27 Enero 2015]. ISSN:0122-9354 Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/951/951>
10. RIAÑO, NB y VERA, VJ. Aislamiento, caracterización y potencial de diferenciación de células madre mesenquimales caninas derivadas de tejido adiposo. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia [en línea]. 2014, no. 2. [Fecha de consulta: 22 Junio 2015]. ISSN: 0120-2952 Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15446/rfmvz.v61n2.44675>
11. RUIZ Arguelles, Guillermo J. Fundamentos de Hematología [en línea]. México: Editorial Médica Panamericana, 2009. [fecha de consulta: 11 Marzo 2015] ISBN 978-607-7743-04-0 Disponible en:

<https://books.google.com.ec/books?id=6ptpJtl80UwC&pg=PR4&lpg=PR4&dq=RUIZ++Arguelles,+Guillermo+J.+Fundamentos+de+Hematolog%C3%ADa++M%C3%A9xico+Editorial+M%C3%A9dica+Panamericana,+2009>

12. SÁEZ Claudia y PALOMO Iván. Hematología [en línea]. Salamanca, Chile: Universidad de Talca, 2005 [fecha de consulta: 2 Febrero 2015]. ISBN: 978-956-7059-85-0. Disponible en : [http:// ambientebogota .gov.co /documents/10157/2447683/7.+MANUAL+DE+PROCEDIMIENTOS+PARA+EL+LABORATORIO+CLINICO+VETERINARIO+EN+EL+CENTRO+DE+RECEPCION+Y+REHABILITACION.pdf](http://ambientebogota.gov.co/documents/10157/2447683/7.+MANUAL+DE+PROCEDIMIENTOS+PARA+EL+LABORATORIO+CLINICO+VETERINARIO+EN+EL+CENTRO+DE+RECEPCION+Y+REHABILITACION.pdf)

2.2. Artículo de Revista Electrónica

1. PÉREZ, Serrano Rosa, RÁMIREZ Jesús, SHIMADA Armando, ANTARAMIAN Anaid, PIÑA Enrique y MORA Ofelia. Células troncales mesenquimales: biología, caracterización y futuras aplicaciones en salud y producción de especies domésticas y pecuarias. *Agrociencia* [en línea]. Agosto-Septiembre 2012, no. 6 [Fecha de consulta: 27 Enero 2015]. Disponible en: agrocien@colpos.mx
2. BENEDETTI, Luciana. Medicina regenerativa y células madre. *Albeitar* [en línea]. 2007. no. 12. [Fecha de consulta: 28 Enero 2015] Disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/3577/articulos-otros-temas-archivo/medicina-regenerativa-y-celulas-madres.html>
3. COURI C. C-peptide levels and insulin independence following autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. 2009 *JAMA* 301 (15): 1573–1579
4. DORTICÓS Elvira, y GARCÍA Pablo. Medicina Regenerativa. Células madre embrionarias y adultas. *Revista Cubana Hematología*. Instituto de Hematología e Inmunología. [En línea]. 2004, no. 20. [Fecha de consulta:

27Enero2015]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol25_1_09/hih02109.htm

5. HEMATOPOYESIS por Héctor Mayani [et al]. Cancerología [En línea]. 2007, no. 2. [Fecha de consulta: 27 Enero 2015].
6. LABOKLIN [En línea]: Hematology in rabbits and guinea pigs. 2009- [fecha de consulta: 2 Julio 2015]. Disponible en: http://www.laboklin.de/pdf/en/aktuell/lab_akt_0910_en.pdf
7. LANA, S.R., ORTELLADO D.V., VILLALBA, M. C. y LANARI, A. Z. (2006). Trasplante de sangre de cordón umbilical de donante no emparentado. Revista de Posgrado de la VI Cátedra de Medicina (158): 18–21. [Fecha de consulta: 14 Mayo 2012]
8. LESTER, Vanessa, TARPLEY, Heather y LATIMER, Kenneth. Leukocyte Identification in Rabbits and Guinea Pigs. MediRabbit Veterinary Clinical Pathology. [en línea]. 2005. [fecha de consulta: 16 Mayo 2015]. Disponible en: <http://www.medirabbit.com>
9. NEGRO, Linda, GAYNOR James, GAHRING Dean y ADAMS Cheryl. Efecto de las derivadas de tejido adiposo madre mesenquimales y células regenerativas de cojera en perros. Veterinaria Terapéutica [en línea]. Invierno 2007, no. 4. [Fecha de consulta: 28 Enero 2015] Disponible en: <http://www.veterinarytherapeutics.com>
10. SÁNCHEZ, Mercedes, SANTURDE Gloria y PUENTE, Laura. Terapia con células madre en los animales domésticos. Argos [en línea]. 2012 no. 40. [Fecha de consulta: 28 Enero 2015]. Disponible en: <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/8346/articulos-archivo/la-terapia-con-celulas-madre-en-los-animales-domesticos.html>.